

Studies on the mechanism of organic solvent tolerance of yeast *Saccharomyces cerevisiae* triggered by a transcription factor Pdr1p

(転写因子 Pdr1p による酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の有機溶媒耐性の獲得機構の解析)

生体高分子化学分野 西田 奈央

微生物の細胞全体を用いた物質生産は、温和な条件下で高い特異性で進行し、多段階反応が可能などの利点がある。しかし、有機溶媒を含む系内への応用には、有機溶媒の細胞毒性が障害となっている。有機溶媒へ耐性を持つ微生物はその問題を解決すると期待されている。原核生物と比較して真核生物の有機溶媒耐性はほとんど報告例がなく、耐性機構は未知だったため、本研究では酵母の有機溶媒耐性の獲得機構の解明を行った。

まず、当研究室で単離した有機溶媒耐性酵母で転写量が上昇していた遺伝子群の中から、実際に有機溶媒耐性に寄与する因子の決定を行った。実験室酵母 *S. cerevisiae* の細胞内で候補遺伝子を過剰発現し、有機溶媒耐性の変化を調べた。その結果、薬剤排出ポンプ Pdr10p, Snq2p, Yor1p、細胞壁タンパク質 Wsc3p, Ynl190wp が特に有機溶媒耐性に関与していることを明らかにした。

次に、有機溶媒耐性に応答して転写量を制御する有機溶媒ストレス応答経路の決定を行い、多剤耐性にも関与する PDR 経路、及び、細胞壁の強度維持に関わる cell wall integrity pathway (CWI) 経路の関与を明らかにした。PDR 経路の代表的な因子である転写因子 Pdr1p 及び Pdr3p、薬剤排出ポンプ Pdr5p が有機溶媒耐性へ寄与することを示した。薬剤排出ポンプ Pdr5p は、薬剤と同様に有機溶媒も能動的に細胞外に排出することが分かった。一方で、細胞壁タンパク質をコードする遺伝子 *WSC3* と *YNL190W* の転写は PDR 経路の因子には影響を受けず、CWI 経路の因子の欠損株で有機溶媒による転写誘導が起らなくなった。

PDR 経路の転写因子 Pdr1p と Pdr3p は遺伝子重複により生じた相同遺伝子で、多剤耐性では重複した機能を持つと考えられてきた。多剤耐性機構ではどちらも薬剤に反応して下流の薬剤排出ポンプの発現を上昇させる。しかし今回、有機溶媒ストレス応答には Pdr3p は関わるものの Pdr1p は関与しないことを明らかにした。欠損株を用いた実験で有機溶媒ストレスのシグナルはミトコンドリアを介して Pdr3p に伝達されることを示唆した。

まとめ

1. 酵母における有機溶媒耐性に寄与する因子として、薬剤排出ポンプと細胞壁タンパク質を決定した。
2. 有機溶媒ストレス応答では、多剤耐性と共通の PDR 経路と、有機溶媒特有の細胞壁の強度維持に関わる CWI 経路が同時に活性化される。
3. 多剤耐性における相同な転写因子 Pdr1p と Pdr3p のうち、有機溶媒ストレスはミトコンドリアから Pdr3p を介して伝達される。

