

論文要約

細胞表層メタノール感知因子 PpWsc1/PpWsc3 が支配する細胞制御の分子機構

応用生命科学専攻 制御発酵学分野 大澤 晋

メタノール資化性酵母のペルオキシソームと C1 代謝関連酵素遺伝子群は、メタノールによって特異的かつ強力に誘導発現される。本酵母は、この誘導性遺伝子発現を利用した有用タンパク質生産の宿主として、基礎研究や産業に広く用いられてきた。一方、先行研究により、複数のメタノール誘導性遺伝子発現制御に関わる転写因子が明らかにされているが、本酵母が細胞外のメタノールをどのように感知し、そのシグナルを細胞内に伝達し、転写因子を制御するかについては全くわかっていない。本論文では *Pichia pastoris* において細胞表層に局在する Wsc ファミリータンパク質 PpWsc1/PpWsc3 がメタノール誘導性遺伝子発現制御に関わることを初めて明らかにした。さらに、ペルオキシソームのオートファジーによる分解機構であるペキシソファジーの抑制に PpWsc1 が重要であることを見出した。また、メタノール誘導性遺伝子発現はエタノールによって抑制されるが、エタノール自身ではなく、その代謝産物が遺伝子発現を抑制していることを示した。

第一章では、細胞表層ストレスのセンサータンパク質として報告されている Wsc ファミリータンパク質の *P. pastoris* におけるホモログ PpWsc1/PpWsc3 を遺伝子発現制御に関わるメタノール感知因子として初めて同定し、その機能解析を行った。主に、PpWsc1 が低濃度メタノール(0-0.05%)、PpWsc3 が高濃度メタノール(0.05-2%)で、シグナル伝達因子である PpRom2 を介してメタノール誘導性遺伝子発現制御に関わることを見出した。*Saccharomyces cerevisiae* において Wsc1 は細胞表層ストレス時にも機能することが知られているが、PpWsc1 部位特異的変異体の解析から、PpWsc1 はメタノールと細胞表層ストレスを区別して認識し、独立して、下流にシグナルを伝達していることを示した。一方、PpWsc3 はメタノール感知に特異的であった。

Wsc ファミリータンパク質は、*S. cerevisiae* では高濃度エタノール(>8%)によるストレスを感知し生理機能を果たすことが知られている。一方、メタノール誘導性遺伝子発現はエタノールにより誘導されず、メタノールとエタノール共存時には抑制される(エタノール抑制)。第二章では、メタノール誘導性遺伝子発現のエタノールによる抑制機構について解析した。エタノール抑制不能変異株を複数単離することで、エタノール自身でなくその代謝がエタノール抑制に必要なことを示した。

第三章では、PpWsc1 のペルオキシソーム動態制御における機能について調べた。本酵母のペルオキシソームは、メタノール培養時に増殖・発達するが、メタノール枯渇時やエタノール培地へ細胞をシフトした時にはペキシソファジーにより分解される。PpWSC1 破壊がペキシソファジーに与える影響を調べたところ、ペキシソファジーが野生株に先行して誘導されていた。このことからペルオキシソーム増殖・発達時に PpWsc1 がペキシソファジーの抑制に機能することを示した。