



Differential importance of trehalose accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* in response to various environmental stresses

出芽酵母における複数の環境ストレスに対するトレハロース蓄積の効果の差異

(JBB, Vol. 109, No. 3, 262 – 266, 2010)

Siraje Arif Mahmud^{1,2}・平沢 敬^{1*}・清水 浩¹

微生物を用いた有用物質生産は、古くは醸造・発酵にはじまり、現在はバイオ燃料やさまざまな化成品の生産など幅広く行われている。この物質生産のプロセスにおいて、宿主となる微生物細胞はさまざまなストレスにさらされる。ストレスとしては、培養初期の高い基質濃度により引き起こされる浸透圧ストレス、物質生産中の熱生産によるストレス、生産物が毒性を有する場合は、その生産物の蓄積により引き起こされるストレスなどが挙げられる。このようなストレスは宿主の増殖や基質の消費、目的生産物の生産性などに影響をおよぼすため、ストレスに耐性を示す宿主細胞の創製が要求される。

筆者らの研究グループでは、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を対象に、DNA マイクロアレイを用いたトランスクリプトミクスをはじめとするさまざまなオミクス解析を行い、その結果に基づくストレス耐性株の取得に取り組んできた¹⁻³⁾。浸透圧ストレス下における網羅的遺伝子発現情報を取得したところ、細胞をストレスから守るために重要な役割を担うといわれているトレハロースの生合成酵素の遺伝子の発現が大きく上昇することを見いだした。しかしながら、トレハロースの分解にかかわるトレハラーゼをコードする *NTH1*, *NTH2*, *ATH1* の各遺伝子の発現も、大きく上昇していた。そこで、トレハラーゼをコードする遺伝子を破壊することにより、さらにトレハロースを蓄積させることができれば、ストレスに耐性を示す細胞を創製することができるのではないかと考え、トレハラーゼをコードする遺伝子破壊株を構築し、ストレス環境下におけるトレハロースの蓄積および細胞増殖を解析した。

筆者らは先行研究⁴⁾において、*NTH1*・*NTH2*・*ATH1* の三重破壊株が親株に比べて多くトレハロースを細胞内に蓄積すること、それに加えてトレハロース合成にかかわる酵素をコードする *TPS1* および *TPS2* 遺伝子の過剰発現によりさらに多く蓄積することを見いだした。また NaCl の添加により引き起こされた高浸透圧ストレスに対して、*NTH1*, *NTH2*, *ATH1* の三重破壊株や *TPS1* や

TPS2 遺伝子を過剰発現させた三重破壊株がトレハロースをさらに多く蓄積するとともに、親株に比べて高い増殖活性を示すことを明らかにした。本研究では、トレハロースの蓄積が他のストレス環境下での増殖や生存におよぼす効果を解析するために、*NTH1*, *NTH2*, *ATH1* の三重破壊株や *TPS1* や *TPS2* 遺伝子を過剰発現させた三重破壊株を用いて、エタノール・熱・過酸化水素・凍結により引き起こされるストレスの環境下での増殖や生存に対するトレハロース蓄積の効果を調べた。

その結果、エタノールストレスに対しては *TPS2* 遺伝子を過剰発現させたトレハラーゼ三重破壊株が、熱ストレスに対しては *TPS1* および *TPS2* 遺伝子を過剰発現させた三重破壊株がストレス環境下で高い増殖活性を示すことが明らかになった。また凍結ストレスに対しては、三重破壊株および *TPS1* や *TPS2* 遺伝子を過剰発現させた三重破壊株の凍結後の生存率を測定したところ、細胞内のトレハロース蓄積量に応じて凍結後の生存率が向上する傾向が見いだされた。しかしながら、過酸化水素の添加により引き起こされる酸化ストレスに対しては、三重破壊株および *TPS1* や *TPS2* 遺伝子を過剰発現させた三重破壊株において過酸化水素の添加により細胞内トレハロース蓄積量は若干増加するものの、その増殖活性は親株とほぼ同程度であった。これらの結果から、ストレス環境下での増殖に対するトレハロース蓄積の効果は、ストレスの種類により異なることが示された。

本研究で構築したトレハロースを多く蓄積する組換え株はさまざまなストレスに対して親株と比べて高い増殖活性や生存率を示すことから、有用物質を生産する際の宿主として利用することができるものと期待される。

- 1) Hirasawa, T. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **70**, 346 (2006).
- 2) Hirasawa, T. et al.: *J. Biotechnol.*, **131**, 34 (2007).
- 3) Yoshikawa, K. et al.: *FEMS Yeast Res.*, **9**, 32 (2009)
- 4) Mahmud, S. A. et al.: *Yeast*, **26**, 17 (2009).

*著者紹介 ¹大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻 (助教) E-mail: hirasawa@ist.osaka-u.ac.jp

²Department of Biotechnology & Genetic Engineering, Faculty of Biological Sciences, Jahangirnagar University, Bangladesh