

Saccharomyces cerevisiae のグルコース感知機構

守屋央朗



醸造に用いられる出芽酵母は、グルコースを発酵することでエネルギーを得ている。この時、酵母細胞はどのようなメカニズムで環境中にグルコースがあることを感知しているのだろうか？

キーワード：グルコース、細胞内情報伝達、ユビキチン化、転写制御、タンパク質リン酸化

はじめに

出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)は、生育環境中にグルコース(ブドウ糖)があると、それを発酵によって代謝し、エタノールと二酸化炭素を作る。この活性のおかげで人類は、ビールやワイン、日本酒といったアルコール飲料やパンを楽しむことができる。このとき酵母は、自分の生命活動に必要なエネルギーである ATP を得ている。しかし、酵母は発酵によってしかエネルギーを得られないわけではなく、グルコース存在下では、わざわざ発酵という代謝プロセスを選んでいるのである。その証拠に、酵母はグルコースを使い果たすと今度は自分が作ったエタノールを使って、酸素呼吸によってエネルギーを得ることができる。

このような代謝経路の変換は、図1に示したグルコースによる遺伝子の発現制御によってなされている。グルコースが存在するとき、グルコース抑制と呼ばれる経路が、ミトコンドリア機能など酸素呼吸に必要な遺伝子群の発現を抑制している。一方、このとき酵母は、グルコースを利用するためグルコースを細胞内に取り込まなければならない。これは、一群のグルコーストランスポータータンパク質によってなされる。このタンパク質は12回の膜貫通部位を持ち、細胞膜にグルコースに親和性を持つ孔を作る。これが細胞の外

向きに開いたり内向きに開いたりすることで、受動的にグルコースを輸送すると考えられている。酵母では、グルコースをより効率よく取り込むために、いくつかのグルコーストランスポーターの発現はグルコースによって誘導される(グルコース誘導)。本稿では、グルコース誘導に関わる信号伝達経路について、最近の知見を解説する。なお、グルコーストランスポーターの発現制御の詳細は参考文献1)を、真核細胞のグルコース感知機構一般については参考文献2)を参照していただきたい。

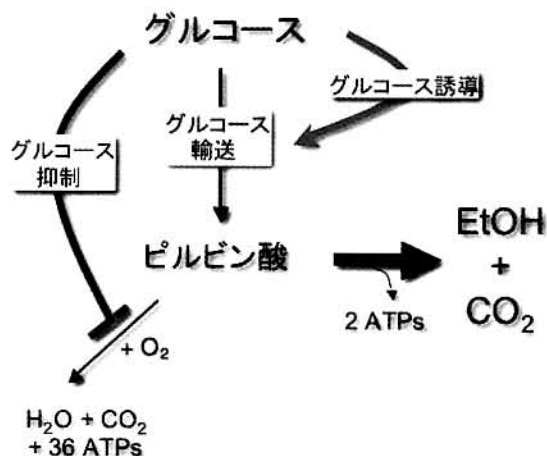


図1 グルコースによる出芽酵母の代謝制御

Glucose sensing system of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*

筆者紹介：もりや・ひさお(MORIYA, Hisao) システムバイオロジー研究機構(JST北野共生システムプロジェクト)(The Systems Bio. Inst., JST Kitano Symbiotic Systems Project)研究員 1998年神戸大学大学院自然科学研究科博士課程修了 博士(理学) 専門：分子遺伝学、システムバイオロジー 連絡先：〒160-8582 東京都新宿区信濃町35慶応義塾大学医学部リサーチパーク 9S3 E-mail hisaom@symbio.jst.go.jp (勤務先)

1. グルコース誘導にかかわる因子

現在までの知見をまとめて示したのが図2である。

(1) グルコースセンサー (Rgt2、Snf3)

この信号伝達経路でグルコースを感知しているのは、細胞膜のセンサータンパク質、Snf3とRgt2である。これら両タンパク質を欠失すると、グルコーストランスポーター遺伝子(以下、*HXT* 遺伝子)のグルコースによる転写誘導が起こらず、酵母のグルコース培地での生育が著しく悪くなる¹⁾。両タンパク質は互いにアミノ酸レベルで70%程度相同で、トランスポーターと同様に12回の膜貫通部位を持っており、この部分がグルコーストランスポーターと50%程度の相同性を示す。しかし、このようにトランスポーター様の構造を持っているにもかかわらずグルコースを輸送する活性がない¹⁾。また、ある変異型Rgt2タンパク質は環境中にグルコースがない場合でも*HXT* 遺伝子の発現を誘導できる¹⁾。これらのことから両タンパク質は、細胞外のグルコースと直接結合して、トランスポーターと同じような構造変化を起こし、細胞内シグナルを発生させるグルコースセンサーだと考えられているわけである。これらセンサーのトランスポーターにない構造上の特徴は、C末端の細胞質部位(テイル(=尻尾)部位と呼ばれる)がトランスポーターに比べて長く、ここにセンサー間で保存された20アミノ酸ほどの配列があることである。このテイル部位は、*HXT* 遺伝子の発現誘導に必要である¹⁾と同時に、後述するMth1、Std1というお互いに70%程度の相同性を持つ介在タンパク質と結合する³⁾。

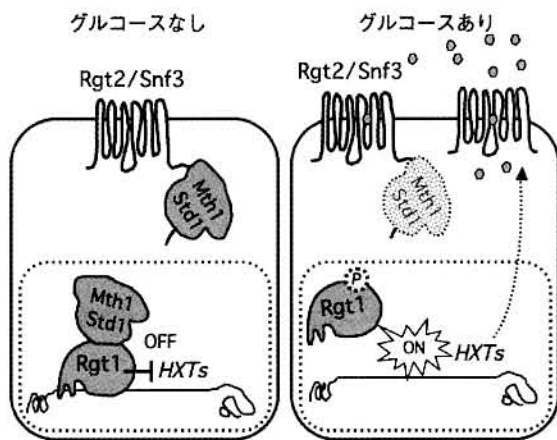


図2 グルコーストランスポーターの発現制御機構

(2) 転写抑制タンパク質 (Rgt1)

このパスウェイの最終的なターゲットは、Rgt1という転写抑制タンパク質である。図2に示したようにRgt1タンパク質はグルコースがないときだけ、*HXT* 遺伝子の上流域に存在するDNA配列を認識して結合し、*HXT* 遺伝子の転写を抑制している。一方、グルコースが培地に存在するとき、Rgt1は未知のプロテインキナーゼによってリン酸化されるとともに、DNAへの結合能力を失う(このときRgt1の核への局在やタンパク質の総量は変化しない)。この状態で*HXT* 遺伝子の転写抑制が解除され、転写が誘導される⁴⁾。

(3) 介在タンパク質 (Mth1、Std1)

Mth1、Std1両タンパク質は、センサーに加えてRgt1とも結合し、Rgt1の抑制活性に必要である。すなわちMth1、Std1両タンパク質を欠失させた細胞では、Rgt1はグルコースがない状態でもリン酸化されDNAに結合できず、*HXT* 遺伝子は恒常的に発現する⁴⁾。このようにして上流(センサー)と下流(転写抑制因子)から順にたどっていくと、センサーで作られたグルコースシグナルは、何らかの方法でMth1とStd1を不活性化させているのだろうという予測ができる(図2「グルコースあり」)。

2. グルコースセンサーによるシグナル発生メカニズム

それでは、Mth1とStd1は実際にはどのようにしてグルコースシグナルによって不活性化されているのだろうか? 答えは、分解である^{4), 5)}。この分解は、Grr1タンパク質を含むユビキチンリガーゼ複合体(SCF^{Grr1})によって介在されることから、この分解はユビキチン化が引き金になっていると考えられる⁴⁾。また、Grr1はリン酸化されたタンパク質を認識してユビキチンを結合させることがわかっているため、これら介在タンパク質は、グルコース条件でリン酸化を受けるだろうことが予測できる。筆者らは、グルコースセンサーが細胞膜にある未知の因子の活性をグルコース依存的に制御しているという根拠を得ていた⁵⁾。そこで前述の理由からこの因子がMth1とStd1をリン酸化するプロテインキナーゼであろうという予測を立て、過剰発現することでグルコースがない状態でも*HXT* 遺伝子を誘導することができるプロテインキナーゼをスクリーニングした。この結果、細胞膜に局在

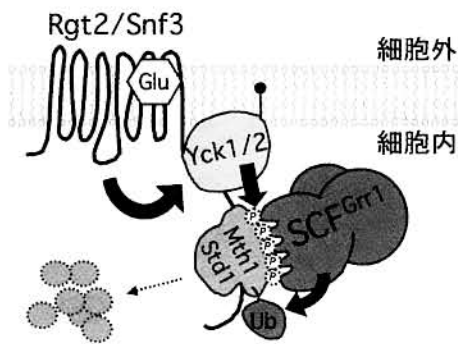


図3 グルコースシグナル発生のメカニズム

している哺乳類のカゼインキナーゼ相同タンパク質の Yck1 と Yck2 (以下、Yck) がこの因子の候補として得られた⁵⁾ (これらのタンパク質も互いに 80% 近い相同性がある)。これに加え、① Yck の活性を著しく低下した酵母細胞株や、Mth1 と Std1 の Yck によるリン酸化部位を置換してリン酸化できないようにした場合には、Mth1 と Std1 の分解が起らず、*HXT* 遺伝子の発現誘導も起らないことや、② グルコースセンサー Rgt2 と Yck1 が物理的に結合することなどを確かめた⁵⁾。

これらのことから、グルコースに結合したグルコースセンサーは細胞膜のプロテインキナーゼ Yck を活性化させて Mth1 と Std1 のリン酸化を促し、それが引き金となって両介在タンパク質の SCFGrr1 によるユビキチン化、プロテアソームによる分解を起こすというメカニズムが考えられた (図 3)。なお、下記のウェブサイトには、筆者が作成したグルコース感知システムのモデルをアニメーションにしたものを載せてあるので参考にしていただきたい。

(http://cell.sysbio.rpk.med.keio.ac.jp/~hisaom/Glucose_induction.swf)

3. グルコース誘導のシグナル伝達メカニズムの一般性

前述の「膜タンパクレセプターの活性化 → 介在タンパク質のリン酸化—ユビキチン化—分解 → 転写制御タンパク質の活性調節」という信号伝達のメカニズムは、哺乳類の炎症性サイトカインのシグナル伝達において発見されていることは興味深い⁶⁾。このように考えると、グルコースは酵母にとって、哺乳類での細胞間シグナル分子と同じような方法で認識されているといえる。

また、酵母では、アミノ酸の感知でも同様なトランスポーター様センサーとタンパク質分解による転写制

御の系が見られているし、哺乳類で SGLT3 というグルコーストランスポーター様のタンパク質が信号伝達の活性を持っていることも報告されている²⁾。トランスポーター様のセンサーは、生物界に広く保存されたものなのかもしれない。

4. グルコース感知機構のシステムバイオロジー

このようにして、グルコース感知機構に関わる分子とそれらの機能、生化学的なつながりが明らかになり、このシステムの全体像が見えてきた。さらに、マイクロアレイ法によってこのシステムのターゲットとなる遺伝子が同定されている⁷⁾。興味深いことに、このシステムによって転写調節を受ける遺伝子は、*HXT* 遺伝子のほかに、このシステム自身の遺伝子 (*MTH1* と *STD1*) があり、このシステムが複雑な制御ネットワークを構築していることが予測される⁷⁾。

筆者が現在所属する JST 北野共生システムプロジェクト (システムバイオロジー研究機構) では、このようにして明らかになってきた信号伝達パスウェイや遺伝子制御ネットワーク図を簡単な操作で作成できるソフトウェア、CellDesigner™ を開発している (<http://celldesigner.org/>)。図 4 は、ここで紹介したグルコース感知の信号伝達と転写制御のパスウェイネットワーク図をこのソフトで作成したものである。このソフトの用いている表記法では、一つの画面ですべての時間的・空間的な制御のネットワークを表すことができ、システム全体の統合的な理解が可能になる。さらにこのソフトでは、ネットワーク図に加えて生化学的データ (化学反応式やタンパク質の存在量など) を入力することで、ネットワーク中の個々の因子の量的な振舞いについてコンピューターシミュレーションも行うことができる。実際に図 4 のようなグルコース感知のパスウェイモデルをシミュレーションすることで、*MTH1* や *STD1* 遺伝子の転写制御における負のフィードバックがシステムの頑健性 (ロバストネス) に関わっていることや、制御機構が不明であった Mig2 や Mig3 といったタンパク質が転写制御において正のフィードバックを形作っていることから、遺伝子発現スイッチとして働いている可能性などが予想できた (未発表)。これが「システムバイオロジー」と呼ばれる研究分野の研究志向の一つであり、前述のように生命現象のシステムとしての振舞いやその構成原理が明らかになることが期待されている⁸⁾。

おわりに

本稿では、出芽酵母のグルコーストランスポーターの発現を制御するグルコース感知機構について解説した。それでは、このような知識は産業にどのように貢献できるのだろうか？

グルコースの存在する条件(最も一般的な条件)で、醸造やバイオ医薬製造のために酵母を使う場合、酵母のグルコースに対する強力なレスポンスのせいで、生産性を下げるような望ましくない問題を引き起こすことがある⁹⁾。例えば、醸造時、酵母は様々なストレスにさらされているが、グルコースは酵母のストレス応答遺伝子の発現を抑制するので酵母の生存率を下げる。あるいはバイオ医薬製造時には、グルコース抑制により発酵が起りエタノールが産生されることで生産物に悪影響を与えることがある。本稿で述べたよ

うな酵母のグルコース感知の機構を理解することで、酵母のグルコースに対する応答をうまくコントロールし、生産性を向上するために利用できるだろう⁹⁾。また、将来的には前述したようなシステムバイオロジーの方法論をさらに発展させて、酵母細胞シミュレーターを作り、細胞や培養の挙動をコンピューターシミュレーションによって把握し、代謝をよりうまくコントロールできるようになることも期待される。

謝辞

本稿で記したグルコース感知機構に対する研究は、著者がワシントン大学(セントルイス)の Mark Johnston 教授の研究室で行ったものである。また、本稿の作成に当たり、貴重な意見をくださった京都大学大学院生命科学研究所の玉置尚徳博士、サントリー(株)の児玉由紀子氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) Ozcan, S. and Johnston, M. : Function and regulation of yeast hexose transporters, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63, 554 ~ 569 (1999)
- 2) Rolland, F. *et al.* : Glucose-sensing mechanisms in eukaryotic cells, *FEMS Trends Biochem. Sci.*, 26,

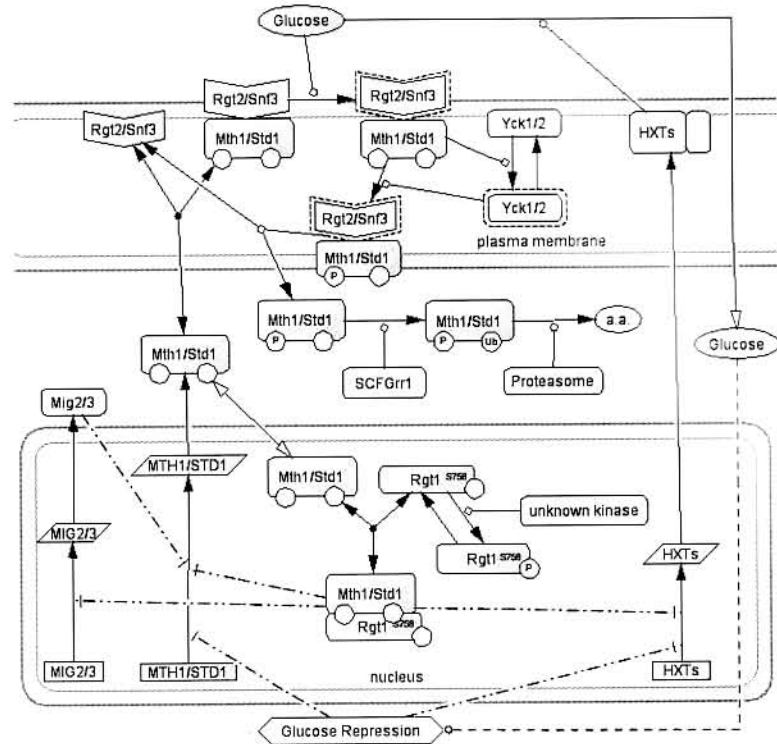


図4 CellDesigner™で作成したグルコース感知機構のパスウェイ図

- 310 ~ 317 (2001)
- 3) Holsbeeks, I. *et al.* : The eukaryotic plasma membrane as a nutrient-sensing device, *Trends Biochem. Sci.*, 29, 556 ~ 564 (2004)
- 4) Flick, K. M. *et al.* : Grr1-dependent inactivation of Mth1 mediates glucose-induced dissociation of Rgt1 from HXT gene promoters, *Mol. Biol. Cell.*, 14, 3230 ~ 3241 (2003)
- 5) Moriya, H. and Johnston, M. : Glucose sensing and signaling in *Saccharomyces cerevisiae* through the Rgt2 glucose sensor and casein kinase I, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 1572 ~ 1577 (2004)
- 6) Karin, M. and Ben-Neriah, Y. : Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity, *Annu. Rev. Immunol.*, 18, 621 ~ 663 (2000)
- 7) Kaniak, A. *et al.* : Regulatory network connecting two glucose signal transduction pathways in *Saccharomyces cerevisiae*, *Eukaryot. Cell*, 3, 221 ~ 231 (2004)
- 8) Kitano, H. : Computational systems biology, *Nature*, 420, 206 ~ 210 (2002)
- 9) Verstrepen, K. J. *et al.* : Glucose and sucrose: hazardous fast-food for industrial yeast?, *Trends Biotechnol.*, 22, 531 ~ 537 (2004)