



Ethanol stress stimulates the Ca²⁺-mediated calcineurin/Crz1 pathway in *Saccharomyces cerevisiae*

エタノールストレスは *Saccharomyces cerevisiae* において
カルシウムイオンを介してカルシニューリン/Crz1 経路を活性化する

(JBB, Vol.107, No.1, 1-6, 2009)

荒木 義雄^{1*}・呉 洪^{1a}・北垣 浩志^{1b}・赤尾 健¹・高木 博史²・下飯 仁¹

バイオマスからのバイオエタノール製造工程では、酵母による主要な発酵産物であるエタノールが酵母自身にとって非常に強力なストレスとなり、細胞増殖や発酵代謝効率を著しく阻害することが大きな問題となっている。出芽酵母（パン酵母）のエタノールに対する耐性獲得機構はこれまで網羅的な遺伝子破壊株の表現型やトランスクリプトーム解析などを含めて多角的に研究されてきたが、エタノールストレスが関与するシグナル伝達経路の理解は依然として不明な点が多い。

シェフィールド大学のPiperらをはじめとする多くの研究者による長年の研究により、エタノールストレスが出芽酵母に及ぼす影響は、細胞壁ストレスや熱ストレスによる影響と共通するところが多いことが明らかになりつつある。この細胞壁ストレスと熱ストレスはPKC-MAPK (protein kinase C-mitogen activated protein kinase) 経路とカルシニューリン (CN) 経路の両方を活性化することが知られている。細胞内では複数のストレスシグナル伝達経路が互いに協調的にはたったり、拮抗したりすることが少なくないので、著者らはエタノールストレス応答機構にCNシグナル伝達経路が関わっているのではないかと考えた。

出芽酵母では高浸透圧や高温などの多様なストレスでCN経路が活性化されると転写調節因子Crz1タンパク質の核蓄積と、そのプロモーター領域にCDRE配列を持つ種々の遺伝子群の転写誘導がおこる。過去の研究では、CN/Crz1経路の遺伝子破壊株がエタノールに感受性を示すとの報告はなく、また、あらかじめ弱いストレスで酵母細胞を前処理した場合に誘導される適応エタノールストレス耐性についても調べられていなかったため、この経路へのCN/Crz1の関与について検討した。

本研究では、はじめに出芽酵母に短時間、低濃度のエタノール刺激を与えたところ、CN/Crz1依存的なCrz1-GFPタンパク質の核蓄積とCDRE-lacZレポーター遺伝子の活性化がみられた。また、 $\Delta cnb1$, $\Delta crz1$ 遺伝子破壊株は適応によるエタノール耐性獲得に欠損を示した。

さらに、短時間CN活性化の前処理をした野生型株は、高濃度のエタノールストレスへの適応力が著しく増強された。加えて、CRZ1多コピープラスミドを持つ出芽酵母細胞群はエタノールストレスへの適応力が増強された。以上の結果は、エタノールストレスが出芽酵母CN/Crz1経路を活性化するだけでなく、この経路がエタノールへの適応耐性、つまり弱いエタノール濃度にさらされた後に強いエタノール濃度への耐性を獲得する現象に関与していることを示している。

近年、ウイスコンシン大学のGaschらのグループは、低濃度のエタノールで短時間前処理した出芽酵母がより高濃度のエタノールに耐性を獲得するために重要な新規適応エタノールストレス応答遺伝子を複数同定している。バイオエタノール製造現場や自然界では、酵母が急激なエタノールストレスにさらされることは非常にまれで、通常は自身が生産し、じわじわと上昇していく環境中のアルコール濃度に対して、少しずつ飼いならされていくことが多いのであるから、著者らやGaschらが見いだしたエタノールストレスに対する高い適応力を持つ酵母の特性は、現場のニーズに強く合致したものである。今後、これらの遺伝子に加えて、CN/Crz1タンパク質がエタノールストレスへの適応過程でどのようなはたらきをしているのか、研究の進展に着目したい。

興味深いことに、最近、京都大学の井上らのグループは、カルシウムイオン存在下で核移行したCrz1タンパク質に依存してストレス応答に関わる転写調節因子のMsn2/4タンパク質が不安定化されることを報告している。エタノール刺激でMsn2タンパク質が速やかに分解されることについては、過去に報告されているので、この過程にエタノール刺激によって核移行したCrz1タンパク質が関与している可能性がある。今後、エタノールストレス応答に関わるMsn2/4やCrz1タンパク質を含めた転写調節因子間のクロストークとそれらの詳細な制御機構についての理解が深まるとともに、これらの知見が産業用酵母の育種へと応用されることが期待される。

* 著者紹介 現、広島大学大学院生物圏科学研究科 (JST特別研究員) E-mail: yoaraki@hiroshima-u.ac.jp

¹ 酒類総合研究所 醸造技術基盤研究部門、² 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科

^a 現、新興科技 (中国)、^b 現、佐賀大学農学部生物環境科学科