

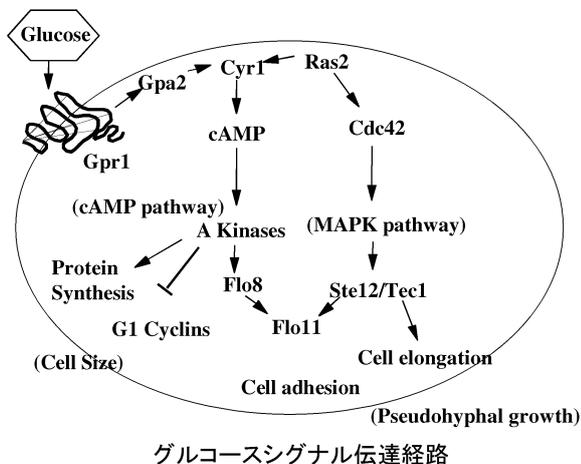
出芽酵母における糖分子シグナルの包括的解析

●玉置 尚徳

京都大学大学院、生命科学研究所

〈研究の目的と進め方〉

細胞における糖分子の認識と応答は多様な生物の生命活動の中でさまざまな役割を担っている。たとえば酵母においては、グルコースは細胞内セカンドメッセンジャーであるcAMP レベルの上昇を引き起こし増殖のスイッチをON にすると考えられている。酵母におけるこのような糖分子の認識と応答については、古くからよく知られた現象である。しかしながらこれら糖分子を認識しシグナルを伝達する受容体はこれまで明らかにされず、その作用機構についてもほとんど解明されていなかった。申請者は、出芽酵母における栄養源認識機構の解明を行い、G タンパク質と共役したグルコース受容体遺伝子GPR1のクローニングに初めて成功した。出芽酵母においては、1996年に全ゲノムの配列が明らかにされ、ポストゲノム時代に突入しており、糖分子によって転写活性化される遺伝子群の包括的解析は、最も重要な課題である。本研究においては、GPR1を介する糖分子シグナル伝達経路の解明を行うとともに糖分子シグナルによって転写活性化される遺伝子の包括的解析を行うことにより酵母における糖分子受容機構の解明を行うことを目的とした。



〈研究開始時の研究計画〉

GPR1遺伝子破壊株と野生株よりmRNAを抽出し、それぞれ異なる蛍光色素Cy3, Cy5でラベルし、出芽酵母cDNAマイクロアレイを用いて遺伝子発現のプロファイルを行う。

〈研究期間の成果〉

出芽酵母の野生株及びgpr1遺伝子欠損変異株について転写に差のある遺伝子の検索をcDNAマイクロアレイを用いて包括的に行った。その結果、GPR1遺伝子破壊株においては、細胞増殖時のタンパク質合成に関与する一連の遺伝子群の転写減少が認められた。遺伝子発現プロファイルの結果から、グルコースのシグナルはGpr1を介してタンパク質合成を促進し細胞増殖を制御していることが考えられた。DNAチップにより明らかとなった遺伝子

の転写調節領域をレポーター遺伝子と組み合わせることによってグルコースセンサー酵母の構築を試みた。

〈国内外での成果の位置づけ〉

出芽酵母におけるグルコースシグナル伝達経路により制御される遺伝子の包括的解析は、基礎生物学として重要であるばかりでなく、酵母を用いている発酵産業にとって貴重な情報を提供するものである。グルコース受容体であるGpr1と共役した3量体Gタンパク質の欠損株における遺伝子発現プロファイルの報告は、本研究による報告のみであり国内外の研究者に先んじた成果といえる。〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉本公募研究期間に行われた実験は、市販の出芽酵母cDNAマイクロアレイを用いて行われたが、遺伝子破壊株と野生株における遺伝子発現の差が大きいもので3倍程度しか見られなかったために、遺伝子発現の傾向は見られたものの詳細な解析結果を得るには至らなかった。論文としてまとめるには、詳細なプロファイルが必要であったためオリゴアレイを用いて再度実験を行う必要があった。詳細な、プロファイリングの結果、Gpr1を介するシグナルは、タンパク質の合成速度に影響を与えることで、グルコース存在下での細胞の大きさの維持に関与することを明らかにした。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

Tamaki, H., Yun, C.-W., Mizutani, T., Tsuzuki, T., Takagi, Y., Shinozaki, M., Kodama, Y., Shirahige, K., and Kumagai, H. Glucose-dependent cell size is regulated by a G protein-coupled receptor system in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Cells*, 10 (3), 193-206. (2005)

Miwa, T., Takagi, Y., Shinozaki, M., Yun, C.-W., Schell, W. A., Perfect, J.R., Kumagai, H. and Tamaki H. Gpr1, a Putative G-Protein-Coupled Receptor, Regulates Morphogenesis and Hypha Formation in the Pathogenic Fungus *Candida albicans*. *Eukaryot. Cell*, 3 (4), 919-931. (2004)