

# オートファジーを駆動する脂質輸送制御機構

中戸川 仁

(東京科学大学 総合研究院)

オートファジーは酵母からヒトまで真核生物に高度に保存された細胞内の分解機構であり、分解対象となる細胞成分はオートファゴソームと呼ばれる二重膜小胞内に隔離され、液胞あるいはリソソームに輸送される。オートファジーを支える分子メカニズムの研究は、大隅良典博士らによる出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* におけるオートファジー関連遺伝子・タンパク質 (ATG 遺伝子・Atg タンパク質) の発見を機に飛躍的に発展した。大隅博士らが同定した約 20 種の Atg タンパク質は、すべてオートファゴソームの形成にかかわる因子であった。これら Atg タンパク質の分子機能および連携の解析により、オートファゴソームの形成機構が明らかにされてきた。

オートファゴソーム膜の伸張機構は積年の課題の一つであったが、近年、大きな進展が得られた。Atg タンパク質の一つである Atg2 に脂質輸送活性があることが判明し、Atg2 が小胞体から形成中のオートファゴソーム膜に脂質を輸送することで膜が伸張するというモデルが提唱された。Atg2 は、ホスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PI3P) 結合タンパク質である Atg18 と複合体を形成し、オートファゴソーム形成の場で産生される PI3P に依存してオートファゴソーム前駆体に局在化するが、Atg2 がどのようにして小胞体に結合するかは不明であった。最近、私たちは、Atg2 が相互作用する小胞体膜タンパク質として、VAP ファミリータンパク質である Scs2 を見出した。Atg2 の N 末端近傍のループ領域には phospho-FFAT モチーフが存在し、Atg2 がオートファゴソーム形成の場に局在化すると、このモチーフ内の Ser および Thr 残基が Atg1 キナーゼ複合体によってリン酸化され、Scs2 との結合が増強される。Atg1 複合体はオートファジーの誘導に応じてオートファゴソーム形成の場で相分離を介してコンデンセートを形成し、自己リン酸化を介して活性化する。したがって、Atg2 と Scs2 との相互作用は、Atg2 と小胞体との結合を時空間的に制御する機構として機能すると考えられる。さらに、哺乳類細胞においても ATG2 は VAP ファミリータンパク質と相互作用することが示唆された。すなわち、今回出芽酵母において明らかにした Atg2 と小胞体との結合機構は、酵母からヒトまで保存されており、オートファゴソーム形成を駆動する脂質輸送反応の開始を制御すると考えられる。

# 糸状菌に感染するウイルスの探索と機能解析

二宮章洋

(東京大学 大学院農学生命科学研究科)

真菌にはしばしばマイコウイルスと呼ばれるウイルスが感染する。マイコウイルスの多くは宿主の生育に明確な悪影響を及ぼさず、持続感染することから、宿主と共生的な関係にあると考えられている。細胞外からのマイコウイルスの感染経路は確認されておらず、菌糸融合による水平伝播、および分生子形成による垂直伝播のみが知られている。あるマイコウイルスがクリ胴枯病菌 (*Cryphonectria parasitica*) の病原力を低下させることが報告され、当該ウイルスが感染したクリ胴枯病菌が防除剤として実用化したことを端緒として、植物病原菌からウイルスを探索し、その機能を解明する研究が盛んにおこなわれた。その結果、ウイルスの多様性の理解が大きく進んだのみならず、マイコウイルスが宿主の生理に広範な影響を与え得ることが判明した。しかしながら、ウイルスが宿主の植物に対する病原力を弱める現象については知見が蓄積しているのに対して、ウイルスが宿主のその他の生理機能に与える影響については理解が進んでいないと言える。このような背景の下、演者らはマイコウイルスが持つ未知の機能を明らかにすべく研究を進めてきた。本講演では2つの研究例を紹介する。

まず、ウイルスが糸状菌の二次代謝に与える影響について紹介する。糸状菌は多様な二次代謝産物を産生することから、有用物質の探索源として用いられてきた。糸状菌のゲノム中には数十程度の二次代謝産物の生合成遺伝子が含まれるが、その大半は通常研究室で用いられる培養条件では発現せず、休眠遺伝子と呼ばれる。人為的に休眠遺伝子を活性化させることができれば、新規物質を獲得できると期待される。演者らは、糸状菌の潜在的な物質産生能を刺激する新たな内在性因子として、ウイルスに着目した。イネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*) を用いてウイルスが二次代謝に与える影響を調査した結果、*Magnaporthe oryzae* virus 2 というウイルスが、テヌアゾン酸という毒素の産生を転写レベルで活性化することを示唆する結果を得た。

次に、ウイルスが、食品の発酵に関わる糸状菌に与える影響について紹介する。真菌は酒、醤油、および味噌をはじめとした様々な食品の発酵に利用される。しかしながら、食品の発酵に関わる真菌にマイコウイルスが与える影響については、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* に感染するウイルスを除いて理解が進んでいない。そこで演者らは鰹節の発酵に関わる真菌 (鰹節カビ) に着目し、ウイルス探索と機能解析を進めている。これまでに10の新規ウイルスを発見しており、その多様性と、鰹節カビの生理に与える影響について紹介したい。

**TAQing システムによる異種間雑種酵母の進化育種**  
**片平悟史、池内暁紀、岩井幸一郎、中村里沙、田中秀典、**  
**村本伸彦、石田亘広**  
**(株式会社豊田中央研究所)**

大規模なゲノム再編成は、複数形質を同時に改良できる育種手法である。近年の次世代シーケンサーの発展により、ゲノム再編成の誘発と全ゲノム解析を往復する「ゲノム進化育種」が実装可能となりつつある。そこで我々は、細胞内でゲノム DNA に多点的かつ穏やかな二本鎖切断を導入し、大規模ゲノム再編成を誘発する TAQing システムを開発してきた。本システムで用いる好熱菌由来の制限酵素 TaqI は、30°Cでは活性が強く抑制されるため酵母細胞内での発現が可能であり、一過的な温度上昇によりゲノム全体に穏やかな切断を誘導できる。これまでに、酵母および植物に TAQing システムを適用することで、染色体の大規模な転座、挿入、欠失、一塩基置換など多様な変異スペクトルを誘発できることを示してきた<sup>(1-3)</sup>。本システムでは体細胞分裂下でも減数分裂と同等以上の再編成効果が得られることから、孢子形成が困難な酵母種を含むゲノム育種への応用が期待される。

ビール醸造に用いられるラガービール酵母の改良が、異種間雑種(ハイブリッド)形成とゲノム再編成により進んできた点に着目し、異種間雑種と TAQing システムを組み合わせた進化育種を検討した。*Saccharomyces cerevisiae* BY4742 株と *Saccharomyces eubayanus* NBRC11153 株を用い、*S. cerevisiae* ゲノム 1 セットと *S. eubayanus* ゲノム 2 セットを有する 3 倍体雑種 (Sc1Seu2) を作製した。TaqI 発現ベクター導入後、誘導および温度シフトによる活性化処理を施し、麦汁培地で反復培養・選抜を行った。その結果、マルトース消費速度やエタノール生産速度などの発酵特性が変化した株を取得した。また取得した株の全ゲノム解析により染色体転座や特定染色体領域の欠失など大規模な再編成イベントが検出された。さらに、取得した株の発酵液中の香気成分を分析したところ、ゲノム構造が大きく改変された株では香気成分が顕著に変化することが明らかとなった。以上より、TAQing システムを用いたゲノム進化育種により、親株とは異なる発酵特性や香気成分を有する株が取得可能であることと、特性に関係するゲノム構造を明らかにできることが示唆された。

- (1) Muramoto, N., *et al.*, *Nat. Commun.*, 9, 1995 (2018).
- (2) Sugimoto, H., *et al.*, *Plant J.*, 102, 1042–1057 (2020).
- (3) Tanaka, H., *et al.*, *Plant J.*, 103, 2139–2150 (2020).

# 自然環境から分離されたビール酵母の解析

小野千由貴

(岡山大学 環境生命自然科学学域)

近年、自然由来の野生酵母を利用したオリジナル製品として、日本酒、ワイン、ビールが各地で醸造され、製品化が進んでいる。特にクラフトビールは、地域性や独自性を付与する手段として野生酵母への関心が高まっている。一方で、自然環境から分離された野生酵母は株ごとの性質が多様であり、醸造への利用にあたり分離株の同定、特性評価、ならびにデータに基づいた整理が求められている。

私は博士号取得後、岡山で研究を継続する場を模索する中で、「ビール醸造に有用な野生酵母を自然環境から分離・同定したい」という発想に至り、大学内ベンチャーに参画した。ビール醸造に関する事業計画を立案すると同時に、学部時代の研究室と共同研究の体制を整え、自然環境からの野生酵母の単離を本格的に開始した。その後、現在の研究室に移り、酵母に関する学会に参加するようになると、野生酵母に関する議論が活発に行われていることを知った。また、野生酵母を醸造所へ提供している研究者が多数おられることもわかった。こうした出会いをきっかけに、ビール醸造を目的とした野生酵母研究の場として、「自然ビール酵母」研究会を立ち上げた。ビール醸造を目的とした野生酵母の単離・同定は、主に *Saccharomyces cerevisiae* (以下、*S. cerevisiae*) を対象としているが、研究会を通して、*S. cerevisiae* に限らない non-*S. cerevisiae* 酵母利用の可能性や、大学と醸造所がつながることの意義を実感し、野生酵母がもつポテンシャルを強く認識するようになった。

野生酵母を取得するためには、フィールドワークが不可欠であり、私自身も大学内(農学部山陽圏フィールド科学センター)や岡山市内において採取を行い、単離を試みている。本講演では、研究室でのビール醸造方法(試験醸造が可能な環境)に加え、野生酵母を用いた小規模発酵試験について紹介する。また、福山大学の久富泰資先生との共同研究として、小規模発酵試験によるアルコール試験等の発酵能評価や代謝解析を行った事例について報告する。さらに現在は、取得株の gDNA 解析を進めており、今後は酒類総合研究所の赤尾健先生が構築されている系統樹に本株のデータを加えていただくことを目指している。

本研究室で取得した株についても同定試験を進めている。将来的には、ビール醸造において重要となる糖資化性、特にマルトース資化性の向上を目指し、取得した野生酵母を用いたビール醸造へ発展させたいと考えている。本研究を通じて、自然環境由来ビール酵母の同定および発酵能の解析、醸造に至る過程を共有し、自然ビール酵母の有用性を高めるとともに、基礎研究の発展に貢献したい。