

## Pichia 酵母における恒常的な小胞体ストレス応答

谷口直輝<sup>1</sup>, Binti Mohd Fauzee Yasmin Nabilah<sup>1</sup>, 木俣有紀<sup>1</sup>, Le Quynh Giang<sup>1, 2</sup>, 木俣行雄<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>奈良先端大・先端科学技術・バイオ, <sup>2</sup>ベトナム・VAST・Inst. Biotech.)

真核生物細胞では、細胞外や他のオルガネラに運ばれるタンパク質は、小胞体にて折り畳まれる。小胞体が機能不全を来す状況は小胞体ストレスと呼ばれ、小胞体への構造異常タンパク質の蓄積を伴う。細胞はそれに対する防衛応答として、分子シャペロン BiP など小胞体で機能するタンパク質の発現を誘導する。これが Unfolded protein response (UPR、小胞体ストレス応答)である。Ire1 はすべての真核生物に保存された小胞体局在 I 型膜貫通タンパク質であり、小胞体ストレスに応じて RNase として機能し、UPR を引き起こす。一部の種を除く酵母では、Ire1 の標的は *HAC1* mRNA である。小胞体ストレス状態にある酵母細胞では、Ire1 依存的なスプライシング反応によってイントロンが取り除かれ、成熟型 *HAC1* mRNA の翻訳により生じるタンパク質は核内転写因子として機能し、UPR における遺伝子発現調節を司る。

UPR についての研究は *Saccharomyces cerevisiae* を用いたものが先行していたが、近年、他の酵母種での解析も精力的に進められている。メタノール資化酵母 *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*) は、メタノール培地での培養によって代謝経路が大幅に変更し、*AOX1* 遺伝子 (アルコール酸化酵素をコード) が極めて強力に発現する。よって、*AOX1* 遺伝子プロモーター制御下で外来遺伝子を発現させることにより、有力な異種タンパク質発現システムとなる。我々は *P. pastoris* でのタンパク質分泌に関わる研究を進める一環として、その UPR をモニターした。グルコースを炭素源とした汎用培地においても、メタノール培地においても、*P. pastoris* 細胞では対数増殖期において、強く *HAC1* mRNA がスプライシングされていた。そして、Ire1 遺伝子の破壊は、*P. pastoris* 株の増殖速度を著しく低下させた。これは、*S. cerevisiae* では通常状態では *HAC1* mRNA のスプライシングが僅かしか認められず、Ire1 遺伝子の破壊は増殖にほとんど影響しないのと対照的である。また、*S. cerevisiae* に比して *P. pastoris* は、通常時のタンパク質分泌量が多かった。*P. pastoris* はそもそもタンパク質分泌が盛んで、外部からの刺激がなく良好に増殖しているときでも小胞体ストレス状態にあるのだろう。