メタノール資化性酵母の利用を出発点にした分子細胞生物学の発展

京都大学　農学研究科　応用生命科学専攻　阪井康能

メタノールを単一の炭素・エネルギー源として生育できる真核微生物として 1969 年にメタノール資化性酵母(C1 酵母) *Candida boidinii* (*Kloeckera* sp. 2201)が、緒方浩一（京大・農）らにより報告された。1970 年代には、我が国では谷・加藤（京大・農)らが *C. boidinii* を用いて、ヨーロッパでは Sahm (独)、Harder(蘭)、Trotsenko（ロシア）らが高温耐性酵母 *Ogataea polymorpha* (*Hansenula polymorpha*)を用いて、alcohol oxidase (AOD)に始まる酸化経路、dihydroxyacetone synthase (DAS) により HCHO を固定するキシルロースモノリン酸経路を解明し、酵母 C1 代謝のほぼ全貌が明らかとなった。さらに、AOD と DAS がカタラーゼとともにメタノール培養時に誘導合成され、細胞内容積の 80%にも発達するペルオキシソーム(Ps)に、輸送、局在することが福井(京大・工)・大隅正子（日本女子大)、Harder らにより明らかにされた。メタノール誘導下では、AOD や DAS は可溶性タンパク質の約 40%、Ps は細胞内容積の 80%を越えるほどに発達する。一方、*C. boidinii* における Ps 分解も、ペルオキシソームを分解するオートファジー(ペキソファジー)として Sahm らにより最初に記載されている。このようなメタノール資化性酵母に関する基礎科学が進められた一番の要因は、化石資源である石油に変わる炭素資源としての天然ガス、さらにそれを原料として生産され、液体で運搬しやすいメタノールが微生物炭素源として注目され、安価なメタノールを原料とする SCP・有用物質の生産が民間企業も含めて強力に進められたことが背景にある。

1980 年代後半に入ると、Hollenberg(独) らにより *O. polymorpha*、Philips(米) により *Komagataella pastoris* (*Pichia pastoris*) を用いた異種遺伝子発現系が開発され、現在までに数多くの異種タンパク質生産が報告されている。その特徴は、大腸菌とは異なる真核細胞性のタンパク質合成・分泌系とメタノールによる強力かつ厳密な誘導性にある。我々も *C. boidinii* 異種遺伝子発現系を開発し、Ps 内タンパク質生産や発現系と組み合わせたバイオコンバージョン ATP 生産などを報告した。

その一方で、C1 酵母が、そのメタノールによって発達する Ps を対象とした細胞生物学のモデル生物として利用されることとなる。ヒトにおける Ps 欠損は Zellweger 症候群などの重篤な遺伝病を引き起こすことから、Ps へのタンパク質輸送や Ps 合成の分子メカニズムの解明に C1 酵母が一役買うことになる。出芽酵母 *S. cerevisiae* では、Ps 合成に関わるペルオキシン遺伝子(*PEX*)の欠損株は、オレイン酸生育不能株(ole-株)の中から単離されたが、ole-株には、オレイン酸代謝酵素の欠損株が多く含まれてしまう。一方、*K. pastoris* は、ペルオキシソーム誘導炭素源であるオレイン酸とメタノールの両方を炭素源として利用できる。Cregg ら, Subramani(米国)らは、オレイン酸とメタノールの両炭素源での生育能を失った *K. pastoris* 株の中から、Ps 欠損株を効率よく単離し、PTS1 レセプターである *PEX5* を初めとする多くの *PEX* 遺伝子のクローン化に成功した。そしてそのホモロジー配列の検索により、ヒトを含む *PEX5* 遺伝子のクローン化も行われ、大きく発達したペルオ