

## 群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 4年 4月 1日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 久留米大学 分子生命科学研究所  
職 名 教授  
研究代表者 齋藤成昭

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:21022)

1. 共同研究課題名	細胞外ヘキソース濃度変化に対する細胞適応の仕組み			
2. 共同研究目的	真核生物は細胞内代謝物質の量的変化を感知することにより、細胞外のブドウ糖や果糖といったヘキソース(六炭糖)濃度変化に適応する仕組みを持つと考えられて来たが、その詳細は不明である。本共同研究では、質量分析によるメタボローム解析で糖濃度変化への応答を誘導する細胞内代謝物質を特定する。			
3. 共同研究期間	令和3年 4月 1日 ~ 令和4年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 齋藤成昭	久留米大学 分子生命科学研究所 細胞工学研究部門	教授	研究の総括	
(分担研究者) 石川 健	同上	助教	酵母株の作成・解析	
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	個体代謝生理学分野	氏 名	西村 隆史

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

本共同研究では申請者(久留米大学)が酵母細胞株作成や細胞サンプル調整を行い、質量分析によるメタボローム解析を西村隆史博士(群馬大学)が行うという研究計画を立てた。

**(1)hxx2 遺伝子破壊酵母のメタボローム解析:**分裂酵母のヘキソキナーゼ(Hxx2)破壊株は解糖系の異常により、そのメタボロームが野生型の低果糖濃度(0.08%)環境下のメタボロームをミミックするため、環境中の果糖濃度が高くても低果糖応答が誘導されると考えられる。野生型分裂酵母で高/低果糖濃度、Hxx2 破壊株の高果糖濃度下、の解糖系メタボロームを調べ、野生型が高果糖濃度から低果糖濃度の培地に移された時と同様の変化が Hxx2 株のメタボロームに見られるか検証する。同様の変動を見せる代謝物質は応答を誘導するシグナルとして働くと考えられる。

**(2)代謝物質蓄積変異株のメタボローム解析:**申請者が確立した遺伝子ノックダウン方法(Ishikawa, 2021)などを用いて種々の代謝経路を改変し、その変化に応じて高果糖濃度への応答が誘導されるか調べる。また、この改変によりどのようなシグナル代謝物質の量が変化するかをメタボローム解析で検証する。

## 7. 共同研究の成果

**(1)糖濃度変化に対するメタボローム応答の解析技術基盤:**本研究では分裂酵母を用いて、環境変化に対するメタボロームの応答を質量分析により解析する技術基盤を確立した。これにより、高ブドウ糖濃度(2%)培地と比べて、低ブドウ糖濃度(0.08%)培地では解糖系前半の代謝物質の量が低下する事を観察した。また、ブドウ糖の代わりに果糖を用いた実験でも同様の結果が得られた。これらの実験系により、遺伝子変異が解糖系メタボロームにどのような変化をもたらすか調べる準備が整った。

**(2)解糖系を介した細胞外糖濃度感知:**本研究では解糖系フラックスを低下させる遺伝子変異(hxx2 欠損)が環境中糖濃度への応答に異常をきたす仕組みを明らかにしようとした。上記の実験系を用いて、hxx2 欠損株が高果糖濃度(2%)環境下で低果糖濃度(0.08%)環境下のメタボロームをミミックするか、メタボロームの比較を行った。その結果、予想に反して hxx2 欠損株は野生型株の低果糖培地へのメタボローム応答をミミックせず、それとは逆の増減が観察された。この結果から、hxx2 変異株は低果糖濃度環境下の応答を担うシグナル代謝物を同定する材料としては適さないことが分かった。

**(3)代謝物質蓄積変異株のメタボローム解析:**申請者が確立した遺伝子ノックダウン方法を用いて種々の代謝経路を改変しメタボロームへの影響を質量分析により調べた。その結果、複数の代謝経路において、期待通りの代謝物質蓄積が認められた。この成果により、分裂酵母で初めて、生育に必須な代謝経路を条件的に抑制する技術が確立された。この技術を用いれば、環境中糖濃度変化への応答と代謝物質の関係を明らかにできるだけでなく、化学合成が困難であった代謝物質を酵母に生産させる産業応用も可能になる。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

- ①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文
- ②この共同研究に基づくとの記載のある論文
- ③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)
- ④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

>解析サンプルについての情報交換(調製方法や調製条件について)

>解析結果についての意見交換

上記について、メール等を通じて適宜、情報交換を行った。