

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16070

研究課題名（和文）酵母のストレス応答における新規な細胞間情報伝達物質の特定とその増殖への影響の検討

研究課題名（英文）Identification of novel cell-to-cell signaling substances in yeast stress response and their effects on proliferation

研究代表者

小田 有沙 (Oda, Arisa)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：00760084

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、酵母がグルコース枯渇環境に適応する際、自身の増殖をも阻害する作用を持つ複数のストレス物質を環境中に分泌することが見出された。つまり、酵母は飢餓ストレスに適応するだけでなく、さらに別の複数の物質を分泌することで、より複合的な「飢餓+毒」というストレス環境を作り出していた。自らの増殖を抑制する物質の分泌は、生存には一見不利に思われる。だが、実際には、飢餓環境へ適応した酵母は、増殖阻害物質群への耐性も示した。これらの結果から、酵母の分泌する阻害物質は成長の阻害と同時に、飢餓への適応を促進することで、自らのリネージに有利な環境を作り出している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、酵母の集団レベルでの適応を観察することで、細胞間相互作用を介した生存戦略を理解することを目指した。その結果、ストレス環境下で、酵母が自身のリネージの生存に有利なように環境中に物質を分泌することがわかった。この研究は、従来報告されてきた細胞内の応答と同時に、酵母自身による環境変化も取り扱うことで、より高次元な酵母の環境適応現象の理解へとつながった。

研究成果の概要（英文）：In this study, a phenomenon called "latecomer killing" was observed. We found that yeast cells release several stress responsive toxins that poison other microorganisms when adapting to a glucose depleted environment. These toxins can also have an effect on the yeast cell growth, but cells which produced the toxins acquired resistance to them. Behavior of secreting toxins which can also kill its own clonal cells during critical survival situations of glucose starvation seems risky. But when the cells which had already adapted to glucose starvation and toxins, they can keep food resources for themselves as the toxins inhibit the growth of "latecomer" microorganisms.

研究分野：生物科学

キーワード：酵母 ストレス応答

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酵母は、古くから発酵や醸造などで人類に利用されて来た。また、扱いやすい単細胞の真核モデル生物として、分子生物学の黎明期から、その細胞内での遺伝子発現や代謝経路などが詳しく調べられて来た。醸造学分野などでは、培養スケールの違いによって、細胞の振舞いが変わるために、大規模化の際に培養の条件の再検討がしばしば必要とされる。しかし、酵母の分子生物学研究においては、細胞内のダイナミクスや1細胞レベルでの応答が主流であり、細胞集団としての酵母の生理学的応答はこれまであまり研究されてこなかった。

研究開始当初までに、単細胞生物を細胞集団レベルでの適応・増殖を観察するための高精度な観測系を確立してきた。この研究で用いる連続培養自動濁度計測技術では、振とう培養しながら非接触で、1分おきに1週間以上の長期間に渡って、培地の濁度を測定し続けることができる。この技術では、高い時間分解能で、正確に、細胞密度の定量が可能である。

この技術を用いて、分裂酵母がグルコース飢餓ストレスに応答する様子を観察したところ、環境中に増殖を阻害する複数の代謝産物を分泌することが見出された。

2. 研究の目的

本研究では、酵母の環境応答を細胞集団レベルで観察することで、酵母がストレス環境に適応する際に、これらの増殖阻害物質を介した細胞間のコミュニケーションが果たす役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

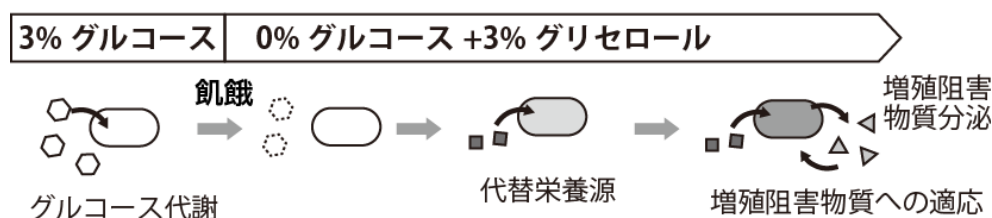
分裂酵母を3%グルコース環境から0%グルコースの環境(代替炭素源としてグリセロールを与える)へと移したとき、糖枯渇ストレスに適応した酵母によって分泌される増殖阻害物質は、後から加えた飢餓に適応していない酵母に増殖を遅延させる効果があった。この増殖阻害物質がどのように増殖遅延を引き起こしているのか、また、阻害物質への適応はどのように起こるのかを調べた。

まず、適応遅延が起こる原因として、細胞周期の長時間停止するために増殖再開が遅れるから、あるいは、初期に細胞の大半が死んでしまうことで残りの少数の生存細胞の増殖してくるのを待つため結果的に遅延に見えるから、という二つの要因が考えられた。これを検証するため、阻害物質存在下での増殖速度を連続培養濁度計を用いて長時間計測すると同時に、FACSと蛍光色素を用いて、誘導期・対数期における適応度と死亡率・細胞周期を定量的に評価した。また、飢餓時の培養上清の成分を質量分析で経時的に定量し、適応フェーズの遷移と増殖阻害物質の分泌の関係を探った。

次に、糖の存在下で増殖阻害物質に適応させた細胞のRNA-seqを行い、増殖阻害物質への適応の経路やメカニズムを推察し、グルコース飢餓状態の細胞と、増殖阻害物質に適応した細胞の内部状態がどの程度一致しているかを検証した。

また、培養上清の増殖遅延が分裂酵母だけでなくワイン酵母やパン酵母などの複数種類の出芽酵母でも見られることを検証し、増殖阻害作用が異なる酵母種間でも普遍的に見られることを確認した。

4. 研究成果



酵母は飢餓ストレスに適応するだけでなく、さらに別の複数の物質を分泌することで、より複合的な「飢餓+毒」というストレス環境を作り出していた(図)。自らの増殖を抑制する物質の分泌は、生存には一見不利に思われる。だが、酵母は、グルコース飢餓状態で毒を出し、かつその

毒に対して耐性を獲得することで、自分は死なずに周囲の微生物を同種他種問わず殺すという戦略を示すことを発見した。これらの結果から、酵母の分泌する阻害物質は成長の阻害と同時に、飢餓への適応を促進することで、自らのリネージに有利な環境を作り出している可能性が示唆された。

発見した現象を「新参者殺し」(Latecomer killing)と名づけ、毒を新規に特定し、新規適応機構も発見した。微生物の増殖を制御するのに有用であり、また単細胞生物から多細胞生物への進化の理解の一助となると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Oda Arisa H., Tamura Miki, Kaneko Kuniyuki, Ohta Kunihiro, Hatakeyama Tetsuhiro S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Autotoxin-mediated voluntary triage in starved yeast community	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.10.17.344093	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kariyazono Ryo, Oda Arisa, Yamada Takatomi, Ohta Kunihiro	4. 巻 47
2. 論文標題 Conserved HORMA domain-containing protein Hop1 stabilizes interaction between proteins of meiotic DNA break hotspots and chromosome axis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 10166 ~ 10180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkz754	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oda Arisa H., Tamura Miki, Kaneko Kuniyuki, Ohta Kunihiro, Hatakeyama Tetsuhiro S.	4. 巻 20
2. 論文標題 Autotoxin-mediated latecomer killing in yeast communities	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS Biology	6. 最初と最後の頁 3001844 ~ 3001844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.3001844	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirata Yoshito, Oda Arisa H., Motono Chie, Shiro Masanori, Ohta Kunihiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Imputation-free reconstructions of three-dimensional chromosome architectures in human diploid single-cells using allele-specified contacts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-15038-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Arisa H. Oda, Tetsuhiro S. Hatakemaya
2. 発表標題 Adaptation at the communication level in yeast: voluntary triage
3. 学会等名 第72回 日本生物工学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小田 有沙、中村 隆宏、村本 伸彦、田中 秀典、久郷 和人、光川 典宏、太田邦史
2. 発表標題 制限酵素 TaqI を用いたゲノム再編成技術 TAQing; Genome rearrangement using the restriction enzyme Taq1
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 A.Oda, N.Takemata, K.Kobayashi, H.Nakaoka, Y.Wakamoto, K.Ohta
2. 発表標題 Chromatin and non-coding transcription during glucose starvation.
3. 学会等名 EMBO Workshop on Fission Yeast The 10th International Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田 有沙、畠山 哲央
2. 発表標題 集まると変わること：酵母のストレス応答，あるいは生物と物理の共同研究について
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田有沙
2. 発表標題 利己的な酵母たち～細胞間コミュニケーションを介した酵母の生存戦略
3. 学会等名 酵母コンソーシアム第4回セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------