

S. cerevisiae の持つアルファグルコシドトランスポーターの諸性質に関する研究

S. cerevisiae は、マルトースを取り込むトランスポーターとして、*MALX1* (X=1, 2, 3, 4, 6) を、マルトースとマルトトリオースの両方を取り込むトランスポーターとして、*AGT1* を持っている。これらの遺伝子はカタボライトリプレッションを受けるため、グルコースの存在下では発現されない。またこれらのタンパクは細胞膜上に局在した後も、グルコース存在下ではすみやかにエンドサイトーシスにより細胞内へ取り込まれ、液胞にて分解される事 (glucose-induced degradation) が知られている。ビール発酵においては、麦汁中のグルコースが資化された後、マルトースとマルトトリオースの資化へスムーズに移行する事が求められるため、これらのトランスポーターの性質を知る事は重要である。

我々は、今までに、III 番染色体に存在する Mal21p が、glucose-induced degradation に対して耐性を持つ事を見い出しており、その醗酵の高速化への利用を考えている。本研究では、Agt1p について、glucose-induced degradation に対する耐性を持つ変異体の取得を試みた。Mal21p について得られた情報を元に、Agt1p と Mal21p とのハイブリッドを作製したところ、Agt1p の N 末の細胞質ドメインを Mal21p と交換したハイブリッド MAAp は Agt1p より長い半減期を持ち、さらに C 末の細胞質ドメインも Mal21p と交換したハイブリッド MAMP は、Mal21p と同等の半減期を持つことがわかった。

また、Mal21p の glucose-induced degradation に対する耐性の決定因子は Gly46 と His50 であることから、Agt1p において、それに相応するアミノ酸、Glu51 を Gly に、Leu55 を His に置換した変異型 Agt1p (Agt1GHp) を作製したところ、半減期が長くなった。さらに Glu51 を Pro に置換した Agt1-51Pp と、Leu55 を Pro に置換した Agt1-55Pp を作製したところ、Agt1-55Pp は非常に長い半減期を持つことがわかった。一般的にトランスポーターの分解は、リン酸化とそれに続くユビキチン化によって誘導されると考えられているが、Mal21p について調べたところ、リン酸化には影響がないが、ユビキチン化が起こりにくくなることで、耐性を獲得していた。本研究で取得した Agt1-55Pp についても同じではないかと考えている。

また、Mal61p と Agt1p の取り込み活性に必須なアミノ酸の同定も試みた。これらのトランスポーターはプロトンシンポーターである事から、基質の通り道では、プロトンリレーが生じていると考えられる。そこで、膜貫通ドメインと推測される領域に存在する、酸性アミノ酸、Glu161 (Mal61p) と Glu167 (Agt1p) を Ala に置換したところ、活性は顕著に減少し、これらの Glu が活性に必須である事が確認された。