特集 —— 生体関連物質と水溶液の高圧力科学 ——

微生物生理におよぼす圧力効果

Effects of High Hydrostatic Pressure on Microbial Physiology

阿部 文快

Fumiyoshi ABE

There have been innovative high-pressure studies on biological processes applying modern techniques of genetics and molecular biology in model microorganisms such as bacterium *Escherichia coli* and yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Recent advanced investigations in this field have been systematically done in the genome-wide level to identify genes and proteins required for microbial growth and survival under high hydrostatic pressure. This article is an overview of studies on the effect of high pressure on microbial physiology and the challenges in piezophysiology, which has been proposed to discover whether the responses of living cells to high pressure are relevant to their growth and viability. [high hydrostatic pressure, bacteria, yeast, model organism, piezophysiology]

1. はじめに

私たちの住む地球は約7割が海で覆われ、その平均深度は3,800 mに達する。10 mにつき水圧は1気圧上がるので、3,800 mだと38 MPa、世界最深部10,000 mのマリアナ海溝では100 MPa（約1,000気圧）もの圧力がかかる。当然、大気圧下にすむ生物機能のほとんどは阻害される。ところが、深海には好圧性生物という不思議な生き物がいて、むしろ圧力を好んで生きている。分子生物学の興味はこうした特殊環境下の生命活動を支える分子やメカニズムの同定にある[1-4]。ところが、深海生物のように自然界から新たに採取された生き物では、遺伝情報が乏しく時に皆無である。それゆえ注目する遺伝子を導入・破壊したり、機能改変するのは非常に難しい。最近のゲノム解読の高速化により、これまで400種以上の微生物で全ゲノム配列が明らかとなっている。好圧性生物としてはプロテオバクテリア（ビブリオや大腸菌の仲間）に属する好圧性細菌 *Photobacterium profundum* で決定しており[5]、*Shewanella violacea* で現在進行している[6]。有用なのはモデル生物と言われている生き物で、大腸菌 (*Escherichia coli* ; <http://www.genome.wisc.edu/>) やバチルス (*Bacillus subtilis* ; <http://genolist.pasteur.fr/>

SubtiList/) などの細菌と、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* ; <http://www.yeastgenome.org/>) や分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe* ; <http://www.genedb.org/genedb/pombe/>) などの真核性微生物がある。こうした生き物では遺伝子機能を解析するテクニックも充実している。私たちは出芽酵母 *S. cerevisiae* を用い、微生物に対する圧力効果とはそもそも何なのかを考え始めた。その延長上に深海生物における高圧適応の理解があると考えおり、“圧力生理学 (Piezophysiology)” という研究領域を提唱している[2, 4, 7]。出芽酵母はパンやビールを造ることで私たちの生活に密着している有用微生物だが、同時に基礎研究においても不可欠な存在である。膨大な数の変異株コレクション、前述したようにゲノム全塩基配列の公開と優れた分子生物学的ツール、そして、真核生物なので得られた成果は医学に応用できる可能性が高い。本稿ではまず細菌をはじめとする微生物一般への圧力効果について概説し、次に筆者らの取り組みを中心に、出芽酵母をモデルとした圧力研究について紹介したい。

2. 微生物一般における圧力効果

Table 1 に微生物の機能や生体関連物質に影響す

〒237-0061 横須賀市夏島町 2-15 独立行政法人海洋研究開発機構 極限環境生物圏研究センター
Extremobiosphere Research Center, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), 2-15 Natsushima-cho,
Yokosuka 237-0061
Electronic address: abef@jamstec.go.jp

る圧力のおおよその下限値を示す。細胞運動や細胞分裂は高圧の影響を受けやすく、20 MPa 程度から阻害が顕著になる[8]。細胞外からのイオンや栄養源取り込みなど、膜タンパク質を介した細胞機能に大きな影響が見られるのは、脂質二重層の構造に対する大きな圧力効果によるものである[9-11]。50~100 MPa では転写や翻訳、DNA 複製などの阻害が顕著になり、同程度の圧力下で真核生物のアクチン骨格やチューブリンの脱重合、リボソームサブユニットの解離など、オリゴマータンパク質の崩壊が始まる[12-15]。これは脱重合や解離に伴う負の体積変化によるもので、露出したタンパク質表面の水和による寄与が大きい。一方、モノマータンパク質の機能失活や圧力変性は 100~200 MPa で始まり、DNA や RNA に至っては 1 GPa 程度まで構造は安定であ

る[16-19]。従って、転写や翻訳・DNA 複製における圧力阻害は核酸そのものの変性ではなく、むしろそれらを操る DNA/RNA ポリメラーゼ複合体やリボソーム構造の崩壊、あるいは伸長速度の低下にあるといえる。実際、大腸菌の RNA ポリメラーゼを用いた *in vitro* 転写反応からは、RNA 伸長の活性化体積（定義については後述する）は 55~65 ml/mol と見積もられていて、圧力による大きな反応阻害が理解される[20]。おもしろいことに、深海の好圧性細菌 *S. violacea* から得られた RNA ポリメラーゼには耐圧性があり、高圧電気泳動法による *in vitro* 解析から少なくとも 140 MPa まではサブユニット構造を維持することがわかっている[21]。一方、同一条件下で大腸菌の RNA ポリメラーゼは解離してしまう。*S. violacea* の生育上限圧力が 70 MPa である

Table 1. Effects of high hydrostatic pressure on microbial physiology and biological macromolecules.

Cellular process/structure	Inhibitory pressure (MPa <)
Motility	10
Cell division	20
Nutrient uptake	15 - 20
Ethanol fermentation	25 - 50
Membrane protein function	25 - 50
Replication	50
Transcription	50 - 100
Protein synthesis	50
Viability	100 - 200
Protein oligomerization	50 - 100
Soluble enzyme function	100
Protein structure (monomer)	200
DNA structure (double helix)	1,000

Fig. 1. Filamentous growth of bacterium *Escherichia coli* cells. Cells were grown under (A) 0.1 MPa or (B) 50 MPa at 37°C for overnight.

ことを考えると、RNA ポリメラーゼは実に 2 倍の安全率を確保しているのだ。

増殖期の大腸菌を 30~50 MPa で加圧培養すると、異常伸長することが古くから知られている (Fig. 1)[22]。大腸菌では通常、FtsZ と呼ばれるチューブリン様タンパク質が細胞分裂する際に内膜中央部に集まり収縮環を形成する。ところが、高圧下では FtsZ の脱重合が進み、細胞質分裂を伴わないまま DNA や RNA、タンパク質合成が進む[23]。その結果、細胞内容物が増大し線維状の多核体を形成してしまうのである。これを大気圧に戻すと速やかに収縮環を形成し、線維はぶつぶつと分断され正常な形態を取り戻す。最近になって、大腸菌を 75 MPa で 30 分あるいは 100 MPa で 15 分という短時間だけ圧力にさらし、その後大気圧に戻すと異常伸長を始めることが報告されている[24, 25]。

大腸菌を 54.6 MPa で培養すると、熱ショックタンパク質や低温ショックタンパク質をはじめ様々なタンパク質の発現が誘導される[26]。興味深いのは、DnaK や GroEL などシャペロンタンパク質で、これらは通常、変性してほぐれた細胞内タンパク質の折りたたみに関わっている。ただし、実際に 50 MPa 前後の圧力で変性するタンパク質が細胞内に存在するのか、それとも新生タンパク質の折りたたみが高圧下で正しく行われぬのかは今のところ不明である。しかし、大腸菌といえども高圧環境に対する防御システムと修復機構を備えている点は注目すべきであろう。大腸菌は 4,000 個以上の遺伝子を持っているが、高圧下におけるそれらの発現レベルが DNA マイクロアレイ法により調べられた。その結果、30~50 MPa における圧力培養によって 300 個以上の遺伝子の発現が誘導されていた[27]。圧力という物理的シグナルにより、いかにして多数の遺伝子が同時に活性化されるのか、メカニズムの解明が今後の焦点となる。

リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) は食物由来の病原性微生物で、回旋病の原因菌でもある。圧力を用いてこれを不活化する試みがなされた。その結果、NaCl を 3% 含む培養液中では生存率が維持されることがわかった。これは、グリシンベタインや L-カルニチンなど、細胞内成分の保護作用をもつ物質の蓄積が NaCl により増大するためと解釈されている[28]。このことは、一般に食塩や糖を多く含む食品で、加圧殺菌により高い圧力を要とする事実と合致する。ただし、リステリア菌に限らず微生物

の生死の判別には注意が必要である。多くの微生物では 200 MPa を越えると生存率が急速に低下するが、一般的には加圧しない試料とのコロニー形成率 (colony-forming unit, CFU) の比で議論される。大腸菌の例だが、リン酸緩衝液に懸濁した菌体に 500~600 MPa の圧力をかけ、ただちに寒天培地に塗布してもコロニーは形成されない。しかし、懸濁菌体を大気圧下、25℃ で 1 週間おいた後に塗布すると、高圧処理前の生存率を取り戻すという報告がある[29]。従ってこの場合、大腸菌は高圧により死滅したわけではなく、ある期間“不活化した”といえる。食品の長期保存を念頭においた場合、特に注意が必要である。

3. 出芽酵母への圧力効果

通常環境で生育した酵母細胞にとって、100 MPa を超える圧力は致死性である[30-32]。しかし、あらかじめ細胞をマイルドに熱処理 (42℃, 30 分など) しておくと、この圧力下での生存率は 1,000 倍くらい高まる[33]。圧力耐性には、熱耐性の獲得で知られているストレスタンパク質の一種 Hsp104 が重要な役割を演じており、圧力で変性した細胞内タンパク質の再生を促す[34]。トレハロースにはタンパク質や生体膜の保護作用があると言われているが、酵母の圧力耐性でも同様の役割を果たす[35]。また、トレハロースは細胞内のトレハラーゼにより加水分解され 2 分子のグルコースを生成する。高圧のダメージから復帰する際、これがエネルギー源として利用されることもわかっている[35]。

50 MPa 以下の圧力なら、20 時間くらいかけても酵母の生存率はほとんど低下しない。しかし、増殖は完全に停止する。圧力と細胞増殖の関係については次節で解説する。酵母を非致死性の圧力にさらすと、細胞内でどんな生理的変化が起こるのだろうか？

細胞内 pH に着目した研究がなされた。カルボキシフルオロセインやカルボキシスナーフ 1 などの pH 感受性蛍光プローブで細胞をラベルし、高圧条件下で蛍光測光が行われた。その結果、50 MPa で細胞質や液胞内が顕著に酸性化することがわかった[36, 37]。こうしたプロトンの蓄積はアルコール発酵に伴い生成する炭酸ガスの水和 ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$) およびイオン化 ($\text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$) が圧力により大きく促進されるためで、その効果はグルコース濃度が高いほど大きい。解糖系の鍵酵素ホ

スホフルクトキナーゼの活性は細胞内 pH の低下に鋭敏に反応するので、圧力は間接的に酵母の発酵能に影響をおよぼすといえる。ここで興味深いのは、液胞内の酸性化が細胞内 pH の低下と協調的に起こる点である。液胞内部はもともと酸性なので、加圧するとさらに酸性化が促進されることになる。液胞のプロトン取り込みを担うのは V-H⁺-ATPase というポンプである。高圧下では、細胞質に蓄積したプロトンを V-H⁺-ATPase の働きにより一時的に液胞に格納し、細胞質の酸性化を緩和するというモデルが出されている[36, 37]。圧力はまた、細胞内の非

特異的エステラーゼの活性を著しく高める[38]。従って、香気成分であるエステル化合物の合成や分解にも影響を与えるであろう。醸造過程では巨大な発酵槽の底部にある程度の圧力が発生するので、こうした圧力誘起の現象が起こっていてもおかしくはない。また、静水圧の代わりにガスで加圧したときは、用いるガスによって増殖への影響は異なる。アルゴン (14.9 MPa)、窒素 (13.3 MPa)、クリプトン (4.29 MPa)、空気 (0.59 MPa)、亜酸化窒素 (0.45 MPa) および酸素 (< 0.2 MPa) で加圧したときの阻害効果はこの順に顕著になる。括弧内は増

Fig. 2. Growth arrest of yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells. Cells were grown under (A) 0.1 MPa or (B) 25 MPa at 24°C for 10 h. Cell cycle is arrested in the G₁ phase.

Fig. 3. Tryptophan uptake of yeast is diminished by high pressure and low temperature due to reduction in membrane fluidity. Overexpression of tryptophan permease Tat2 and the addition of excess tryptophan confer the ability of growth on cells under high pressure and low temperature.

殖速度を 50% に低下させる圧力を表す[39]。不活性ガスや亜酸化窒素には麻酔作用があるので、加圧下でそれらが生体膜に分配し、膜や膜タンパク質機能に様々な影響をおよぼすのであろう。

4. トリプトファンの取り込みは酵母細胞のアキレス腱か？

筆者らは、出芽酵母を 15~25 MPa で培養すると分裂停止し、しばらくすると細胞が一様に丸くなることに気づいた (Fig. 2)。このとき細胞周期は DNA 合成直前の G₁ 期で停止していた[40]。増殖停止時の形態が細胞を飢餓条件下においたときと似て見えたので、試しに 20 種類の各アミノ酸を 1 g/L という過剰量添加して高圧培養してみた。すると驚いたことに、トリプトファンを加えた培地でだけ、細胞は良好に増殖したのである[40]。用いた YPH499 株の遺伝子型は、*ade2 ura3 leu2 lys2 his3 trp1* で、プラスミドの選択マーカーとしてアデニン、ウラシル、ロイシン、リジン、ヒスチジン、トリプトファンを要求する株だった。つまり、これら 6 種類の栄養源を細胞の外から取り込まなくては生きられない株だったのである。常温常圧では、アミノ酸類を 1 g/L も追加しなくても十分増殖する。従って、高圧下では外からのトリプトファンの取り込みが“細胞のアキレス腱”のごとく損なわれてしまい、大量に与えることでそれが補われたのである。実際、トリプトファンを自ら合成できる株は、ゆっくりとはあるが 25 MPa で増殖する。

出芽酵母ゲノムにはアミノ酸輸送体の遺伝子がホモログとあわせ 24 個コードされていて、ほとんどは 12 回膜貫通型と予測されている。高親和性のトリプトファン輸送体 Tat2 を高発現させると、細胞周期の G₁ 期停止は回避され、細胞は 25 MPa の圧力下で増殖することがわかった[40]。のみならず、Tat2 高発現株は 10~15°C における低温増殖能も獲得した。高圧と低温はいずれも生体膜の流動性の低下を招くが、その際、ただちに悪影響を被るのがトリプトファンの取り込みだったのである。Fig. 3 にその概念を模式的に示す。実は、酵母におけるトリプトファンの取り込みを“細胞のアキレス腱”と呼んだのには他にも理由がある。免疫抑制剤の FK506 やラパマイシン、吸入麻酔剤イソフルラン、副腎白質ジストロフィー治療薬 4-フェニル酪酸、有機弱酸、フィトスフィンゴシンなどを酵母に投与すると、

トリプトファン要求株だけ増殖が阻害される (文献 11 内の引用文献参照)。そして多くの場合、Tat2 高発現によって耐性を得るのである。これらの薬剤効果に共通なのは、トリプトファン取り込みへの影響といえる。例えば、ラパマイシンが作用するタンパク質は Tor (Target of rapamycin) と呼ばれ、酵母から動物まで広く保存されている。Tor の不活性化はタンパク質合成の抑制、アクチン骨格形成の阻害、自食作用の誘導、特異的遺伝子の発現など多様な変化をもたらし、Tat2 の分解誘導もその一つである[41]。こうしてトリプトファン輸送体をめぐり、高圧や低温の効果と様々な薬剤作用に共通点があることがわかった。それらをつなぐ鍵が、次に示す“ユビキチン機構”である。

5. ユビキチン機構によるトリプトファン輸送体の圧力制御

トリプトファン要求株を親株として、25 MPa で増殖する変異株 (high-pressure growth mutant) が多数単離された。その一つ、HPG1 株では Rsp5 というユビキチンリガーゼに変異 (アミノ酸置換) が見つかった[11]。ユビキチンは 76 アミノ酸からなる小さな細胞内分子である。それを共有結合したタン

Fig. 4. Ubiquitination-dependent degradation of Tat2 in response to high pressure. High pressure disrupts the structural integrity of Tat2 protein (denatured Tat2, ①). The denatured Tat2 is ubiquitinated by Rsp5 ubiquitin ligase (②). After internalization by endocytosis, it is broken down in the vacuole (③). The activity of Rsp5 ubiquitin ligase is low in the HPG1 mutant (④). Tat2 is scarcely ubiquitinated in the HPG2 mutant (⑤). Consequently, Tat2 is stabilized in the HPG1 and HPG2 mutants. Ub, ubiquitin; Bul1/Bul2, Rsp5 binding proteins.

パク質は不要とみなされ、細胞内の 26S プロテアソームや液胞内で分解される[42]。バクテリアなど原核生物にはない真核生物特有の選択的タンパク質分解システムである。Rsp5 は不要になったタンパク質を認識し、ユビキチンを付加する重要な役割を担う。おそらく、細胞を高圧にさらすと膜構造に歪みが生じ、膜タンパク質である Tat2 は変性するか、または何らかの構造変化が起こるのであろう（ここでは変性 Tat2 と呼ぶ）(Fig. 4)。野生株の場合、変性 Tat2 は Rsp5 によってユビキチン化され、やがて液胞内で処分される。一方、*HPG1* 株では Tat2 の分解が起らず、変性状態のまま Tat2 が細胞膜に蓄積する (Fig. 4)[11]。この状態でも活性はある程度維持されているため、結果としてトリプトファンの取り込みが盛んになり、細胞は高圧条件下で増殖するわけである。また、*HPG2* 変異は Tat2 そのものに生じており、アミノ酸置換は Tat2 の N 末端と C 末端に見つかった[43]。この場合もやはり変異型 Tat2 はユビキチン化を受けにくくなり、高圧下で安定化する (Fig. 4)。そのほかにもユビキチン依存性プロテアーゼの Doa4, Upb6 および Ubp14 を欠損すると、Tat2 が分解されにくくなり細胞は高圧

下で増殖する[44]。前述した薬剤のうち少なくともイソフルラン、4-フェニル酪酸、有機弱酸およびフィトスフィンゴシンは、膜の構造や機能に影響を及ぼす。“適正な膜の状態”がトリプトファン輸送に重要であり、高圧・低温と薬剤の不思議な相関関係を解く重要な因子だったのだ。

酵母にはもう一つ Tat1 という低親和性のトリプトファン輸送体があり Tat2 とは 39% の相同性がある（類似性では 60%）[45]。面白いことに、細胞膜上で Tat2 が流動性に富むグリセロリン脂質部分に存在するのに対し、Tat1 はスフィンゴ脂質やエルゴステロールに富むタイトなドメイン“脂質ラフト”に局在する[11]。この脂質局在の違いが、次節で示すトリプトファン輸送のダイナミクスに大きな影響を及ぼすことがわかった。類似する 2 つの膜タンパク質の脂質局在がなぜ違うのだろうか？ 今後、生化学のみならず、脂質の物性を測る物理化学的なアプローチが必要となる。

Fig. 5. Dynamics of tryptophan uptake mediated by two tryptophan permeases Tat1 and Tat2. Tat1 localizes to lipid rafts while Tat2 localizes to non-rafts. Membrane localization reflects the difference in the activation volume associated with Tat1- and Tat2-mediated tryptophan uptake.

6. 圧力を用いたトリプトファン輸送のダイナミクス解析

圧力は化学反応を体積面から探るユニークな物理因子である。次式から得られる活性化体積 ($\Delta V^\ddagger$) が遷移状態における活性錯合体の立体構造を知る重要な手がかりとなる。

$$(\partial \ln k_{\text{cat}} / \partial p)_T = -\Delta V^\ddagger / RT \quad (1)$$

ここで、 k_{cat} は反応速度定数、 p は圧力、 T は絶対温度、 R は気体定数である。トリプトファンの取り込みに伴う輸送体のダイナミクスは構造変化について、圧力の側面から検討がなされた。トリプトファンの取り込み速度 k_{cat} の圧力依存性と前述の (1) 式から活性化体積 ($\Delta V^\ddagger$) が算出され、その結果、Tat1 と Tat2 を介するトリプトファン輸送の $\Delta V^\ddagger$ は、それぞれ 89.3 および 50.8 ml/mol という非常に大きな正の値を示した[11]。このことは、トリプトファン取り込みの遷移状態で、輸送体タンパク質が大きく膨張することを示唆している (Fig. 5)。こうした大きな構造変化がトリプトファン輸送の特徴であり、高圧や低温に対する感受性の要因なのである。また、Tat1 と Tat2 の活性化体積には約 2 倍の差があったが、おそらくこれは、先述した脂質局在の違いを反映するものと考えられる[11]。すなわち、タイトなドメインにある Tat1 は基底状態の体積が小さいため、トリプトファン取り込みの遷移状態ではより大きな体積の膨張を必要とするであろう。一方、Tat2 は比較的柔軟なグリセロリン脂質部分に局在している、もとの体積が大きいため、遷移状態に至るには相対的に小さめの体積変化ですむという解釈である (Fig. 5)。近年、X 線結晶回折や電子顕微鏡による手法で、膜タンパク質の立体構造が次々と明らかになってきている。しかしそれらは静的構造の可視化であり、動態を示すものではない。圧力実験は、膜タンパク質の動態をダイナミックな体積変化として定量できる唯一の手法である。

7. 転写レベルの圧力応答と生体防御

出芽酵母ゲノムには 6,000 個以上の遺伝子がコードされており、環境変化に応じて全体が巧妙に発現制御されている。DNA マイクロアレイ法による解析で、酵母細胞を 180 MPa の高圧に瞬間的にさらしたり、または 40 MPa で終夜培養したときの全遺

伝子の発現パターンが調べられた。意外なことに圧力の影響は細胞を凍結融解や SDS, LAS などの界面活性剤にさらしたときと類似し、重金属や農薬の投与時とは大きく異なっていた[46]。凍結融解や界面活性剤は生体膜に直接ダメージを与えるので、細胞にとってみれば膜への影響と点で圧力と似ているのかもしれない。一方、代謝系では、細胞壁タンパク質をコードする *DAN/TIR* 遺伝子の発現上昇が顕著で、25 MPa で 5 時間培養すると大気圧下に比べ数倍から 80 倍も発現増強することがわかった[47]。そして *Dan/Tir* タンパク質が蓄積し細胞壁が強固になる結果、低濃度の SDS や細胞壁溶解酵素サイモリアーゼに対する細胞の抵抗性が高まる[47]。これと同時に 100 MPa を超える圧力への耐性も増し[47, 48]、その過程には *Msn2/Msn4* という転写活性化因子が関与している[48]。これまで、*DAN/TIR* 遺伝子は低温や無酸素条件により誘導されるものと考えられてきた[49]。では、高圧・低温・無酸素条件の共通項は何か？高圧と低温は直接生体膜の流動性を低下させる。一方、酸素がないと細胞は脂肪酸のアシル基を不飽和化できないため、脂質に占める不飽和脂肪酸の割合が低下する。結果として生体膜は密にパックされ、膜の流動性は低下する。このことは、高圧・低温・無酸素という異なる外的要因を、細胞は膜構造への共通効果として認識する可能性を示唆している。細胞が圧力という刺激を受け、いかにして特定の遺伝子の転写を活性化しているのか、細胞内の圧力シグナル伝達経路の解明が今後の課題であろう。

8. 高圧増殖に必須な遺伝子の網羅的スクリーニング

酵母ゲノムの 6,000 遺伝子のうち約 4,800 個は非必須遺伝子と呼ばれ、単独で破壊しても生存には影響しない。トリプトファンを自ら合成する株 (従って高圧下で増殖する) を親株とした遺伝子破壊ライブラリーが市販されている[50]。筆者らはそれら 4,800 株全てをスクリーニングし、25 MPa で増殖できなくなる 80 株を得た[51]。すなわち、これら 80 個の遺伝子のうちどれか 1 つを欠くと、常温常圧では何の影響も受けないが、25 MPa では増殖しなくなるのである。おもしろいことに、それら破壊株の多くは低温 (0.1 MPa, 15°C) でも増殖しないことがわかった。すなわち、破壊された遺伝子機能

が高圧や低温条件下の増殖に必要なのである。紙面の都合上、詳細は省くが、80個の遺伝子が担う機能はアミノ酸合成、ミトコンドリア機能、マイクロオートファジー、転写、翻訳、細胞骨格系、あるいは内膜輸送系などに分類され、実に多岐にわたる細胞機能が酵母の高圧増殖を支えていることが明らかとなった。詳しくは文献[51]をご覧ください。深海環境が100 MPaまでの高圧と1~3°Cの低温にさらされた極限の世界だということを考えると、こうした細胞機能を強化させることが環境適応には重要なかもしれない。

9. おわりに

本稿では微生物への圧力効果に関する最近の知見を紹介した。出芽酵母をモデルとした研究からわかったことは、遺伝子発現の制御と機能、いずれにおいても圧力適応には複雑な細胞内ネットワークが存在することである。筆者らは“しんかい2000”や“しんかい6500”などの潜水調査船を用い、深海底泥試料から多数の酵母菌を分離している。*S. cerevisiae*は見つかっていないが、取得された近縁種はそれと共通の遺伝子を持つはずである。出芽酵母で得られた知見を基盤に、深海酵母との比較生理学研究を行うことで高圧環境への適応戦略が浮き彫りになるに違いない。課題は無数に残されているが、出芽酵母の分子生物学が基本的な概念を構築する上で威力を発揮することは間違いないであろう。

高圧下で細胞培養や生理学的測定を行うには実験的な制約はあるが、その分チャレンジングな要素がたくさん残されている。本稿をご覧になった方々が、この分野に興味を抱いてくれることを願う次第である。

参考文献

- [1] C. Kato, D.H. Bartlett: *Extremophiles*, **1**, 111 (1997).
- [2] F. Abe, C. Kato, K. Horikoshi: *Trends Microbiol.*, **7**, 447 (1999).
- [3] D.H. Bartlett: *Biochim. Biophys. Acta*, **1595**, 367 (2002).
- [4] F. Abe: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2347 (2007).
- [5] A. Vezzi, S. Campanaro, M. D'Angelo, F. Simonato, N. Vitulo, F.M. Lauro, A. Cestaro, G. Malacrida, B. Simionati, N. Cannata, C. Romualdi, D.H. Bartlett, G. Valle: *Science*, **307**, 1459 (2005).
- [6] 仲宗根薫, 森浩禎, 馬場知哉, 加藤千明: *化学と生物*, **41**, 92 (2003).
- [7] 阿部文快: *化学と生物*, **42**, 435 (2004).
- [8] R.E. Marquis: *Adv. Microb. Physiol.*, **14**, 159 (1976).
- [9] A.G. Macdonald: *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, **131**, 587 (2002).
- [10] S. Kaneshina, H. Ichimori, T. Hata, H. Matsuki: *Biochim. Biophys. Acta*, **1374**, 1 (1998).
- [11] F. Abe, H. Iida: *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 7566 (2003).
- [12] G.N. Somero: *Annu. Rev. Physiol.*, **54**, 557 (1992).
- [13] A.A. Yayanos, E.C. Pollard: *Biophys. J.*, **9**, 1464 (1969).
- [14] E.D. Salmon: *Science*, **189**, 884 (1975).
- [15] C. Pande, A. Wishnia: *J. Biol. Chem.*, **261**, 6272 (1986).
- [16] K. Gekko: *Biochim. Biophys. Acta*, **1595**, 382 (2002).
- [17] C. Balny, P. Masson, K. Heremans: *Biochim. Biophys. Acta*, **1595**, 3 (2002).
- [18] H. Li, K. Akasaka: *Biochim. Biophys. Acta*, **1764**, 331 (2006).
- [19] R.B. Macgregor Jr: *Biopolymers*, **48**, 253 (1998).
- [20] L. Erijman, R.M. Clegg: *Biophys. J.*, **75**, 453 (1998).
- [21] H. Kawano, K. Nakasone, M. Matsumoto, Y. Yoshida, R. Usami, C. Kato, F. Abe: *Extremophiles*, **8**, 367 (2004).
- [22] C.E. Zobell, A.B. Cobet: *J. Bacteriol.*, **87**, 710 (1964).
- [23] A. Ishii, T. Sato, M. Wachi, K. Nagai, C. Kato: *Microbiology*, **150**, 1965 (2004).
- [24] T. Kawai, M. Wachi, H. Ogino, S. Furukawa, K. Suzuki, H. Ogihara, M. Yamasaki: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **64**, 255 (2004).
- [25] A. Aerts, C.W. Michiels: *Res. Microbiol.*, **156**, 233 (2005).
- [26] T.J. Welch, A. Farewell, F.C. Neidhardt, D.H. Bartlett: *J. Bacteriol.*, **175**, 7170 (1993).
- [27] A. Ishii, T. Oshima, T. Sato, K. Nakasone, H. Mori, C. Kato: *Extremophiles*, **9**, 65 (2005).
- [28] M. Smiddy, R.D. Sleator, M.F. Patterson, C. Hill, A.L. Kelly: *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 7555 (2004).
- [29] S. Koseki, K. Yamamoto: *Int. J. Food Microbiol.*, **110**, 108 (2006).
- [30] H. Kobori, M. Sato, A. Tameike, K. Hamada, S. Shimada, M. Osumi: *FEMS Microbiol. Lett.*, **132**, 253 (1995).
- [31] M. Sato, H. Kobori, S.A. Ishijima, Z.H. Feng, K. Hamada, S. Shimada, M. Osumi: *Cell Struct. Funct.*, **21**, 167 (1996).
- [32] S. Shimada, M. Andou, N. Naito, N. Yamada, M. Osumi, R. Hayashi: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**, 123 (1993).
- [33] H. Iwahashi, S.C. Kaul, K. Obuchi, Y. Komatsu: *FEMS Microbiol. Lett.*, **64**, 325 (1991).

- [34] H. Iwahashi, K. Obuchi, S. Fujii, Y. Komatsu: FEBS Lett., **416**, 1 (1997).
- [35] H. Iwahashi, S. Nwaka, K. Obuchi: Appl. Environ. Microbiol., **66**, 5182 (2000).
- [36] F. Abe, K. Horikoshi: FEMS Microbiol. Lett., **130**, 307 (1995).
- [37] F. Abe, K. Horikoshi: Extremophiles, **2**, 223 (1998).
- [38] F. Abe: Appl. Environ. Microbiol., **64**, 1139 (1998).
- [39] T. Arao, Y. Hara, Y. Suzuki, K. Tamura: Biosci. Biotechnol. Biochem., **69**, 1365 (2005).
- [40] F. Abe, K. Horikoshi: Mol. Cell. Biol., **20**, 8093 (2000).
- [41] J.L. Crespo, M.N. Hall: Microbiol. Mol. Biol. Rev., **66**, 579 (2002).
- [42] A. Hershko: Curr. Opin. Cell Biol., **9**, 788 (1997).
- [43] A. Nagayama, C. Kato, F. Abe: Extremophiles, **8**, 143 (2004).
- [44] T. Miura, F. Abe: FEMS Microbiol. Lett., **239**, 171 (2004).
- [45] A. Schmidt, M.N. Hall, A. Koller: Mol. Cell. Biol., **14**, 6597 (1994).
- [46] H. Iwahashi, H. Shimizu, M. Odani, Y. Komatsu: Extremophiles, **7**, 291 (2003).
- [47] F. Abe: FEBS Lett., **581**, 4993 (2007).
- [48] T. Domitrovic, C.M. Fernandes, E. Boy-Marcotte, E. Kurtenbach: FEBS Lett., **580**, 6033 (2006).
- [49] N. Abramova, O. Sertil, S. Mehta, C.V. Lowry: J. Bacteriol., **183**, 2881 (2001).
- [50] A.C. Martin, D.G. Drubin: Curr. Opin. Cell Biol., **15**, 6 (2003).
- [51] F. Abe, H. Minegishi: Genetics, **178**, 851 (2008).

[2008年1月25日受理]

© 2008 日本高圧力学会