

講演番号：3B11a04

講演日時、会場：3月26日 09:36～ B校舎11会場

メチロトローフ酵母 *Pichia pastoris* の高メタノール生育変異株の構築

Isolation of *Pichia pastoris* mutant that shows high growth rate in high methanol concentration

○岩田 昇悟<sup>1</sup>、早川 享志<sup>1,2</sup>、中川 智行<sup>1,2</sup> (1岐阜大院応生、2岐阜大応生)

○Shogo IWARA<sup>1</sup>, Takashi HAYAKAWA<sup>1,2</sup>, Tomoyuki NAKAGAWA<sup>1,2</sup> (1Gifu Univ., 2Gifu Univ.)

### 【目的】

メタノールは、天然ガスや CO<sub>2</sub> などから直接合成でき、燃焼の際、水と CO<sub>2</sub> にまで完全酸化される特徴を持ち合わせることから、現在、最も環境負荷の少ない次世代型エネルギー源・炭素源のひとつに数えられている。私たちは、メタノールを唯一の炭素源として利用できるメチロトローフ酵母を用いることで、安価でかつクリーンな炭素源であるメタノールを出発原料とした発酵生産系の構築が可能であると考えている。しかし、メチロトローフ酵母は 5%を超えるような高メタノール環境下で生育が困難になることが知られており、メタノールを出発原料とした高効率な発酵生産系の構築が期待できないのが現状である。つまり、メチロトローフ酵母の多様な産業分野への応用を達成するには本酵母のメタノール生育能をより強化することが必要不可欠である。これら背景から、私たちは高メタノール条件下においても十分な生育能を持つメチロトローフ酵母の「高メタノール生育株」の育種を試みることにした。

### 【結果および考察】

まず最初に、*Pichia pastoris* GS115 株のメタノール生育限界濃度について検討を行った。GS115 株は 1%メタノール濃度までは十分な生育を示したが、2.5%から徐々に生育阻害が認められはじめ、7.5%メタノール培地には全く生育することができなかった。また、これらメタノール生育中における毒性代謝中間体ホルムアルデヒドの挙動について観察を行ったところ、1%メタノール生育では、GS115 株は培地中に 0.15 mM のホルムアルデヒドを蓄積し、その後減少した。一方、3%メタノール生育では培地中のホルムアルデヒド濃度は 0.3 mM 以上にも達していた。つまり、GS115 株は高メタノール濃度での生育の際、毒性の高いホルムアルデヒドを高生産してしまうことが生育阻害の原因のひとつであると推測できる。

さらに、EMS 処理法にて GS115 株の高メタノール耐性変異株の取得を試みた。EMS 処理細胞を YNB-MeOH 液体培地にて 30°C で培養し、7.5%メタノール条件下で野生株よりも生育が良好な株を 1 株選抜し、SH1 株と命名した。SH1 株は、1%の低メタノール濃度下では野生株と同等のメタノール生育を示すが、野生株では生育阻害が見られる 5%以上のメタノール培地にも良好に生育でき、その生育限界濃度は 12.5%であった。今後、SH1 株のホルムアルデヒド耐性能およびメタノール代謝酵素群の発現挙動についても検討を行う予定である。

*Pichia pastoris*, methylotrophic yeast, methanol growth