

講演番号：3B22p08

講演日時、会場：3月26日 15:24～ B校舎22会場

産業プロセスに有用な酢酸ストレス耐性酵母の同定と耐性メカニズムの解析

Identification of an acetic acid-tolerant strain of *Saccharomyces cerevisiae* and characterization of stress-tolerant mechanisms.

○田中 晃一¹、灰谷 豊¹、吉山 洋子¹、山本 まみ²、中村 敏英²、安藤 聡²、小川 順³、島 純¹ (1京大・微生物科学、²食総研、³京大院農・応用生命)

○Koichi TANAKA¹, Yutaka HAITANI¹, Yoko YOSHIYAMA¹, Mami YAMAMOTO², Toshihide NAKAMURA², Akira ANDO², Jun OGAWA³, Jun SHIMA¹ (¹Res. Div. Microbial Sci., Kyoto Univ., ²Natl. Food Res. Inst., ³Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

【背景・目的】

バイオエタノールの製造プロセスにおいて、糖化・発酵過程での雑菌混入はエタノール収率を大きく低下させる。有機酸添加による雑菌抑制は、低エネルギー、低コスト、低環境負荷といった利点も多く、産業レベルでのエタノール製造において最も実用的な雑菌汚染低減法である。有機酸添加条件におけるエタノール発酵生産の効率化を図る目的で、酸ストレスに耐性を有する出芽酵母株の同定と耐性メカニズムの分子機能解析をおこなった。

【方法・結果】

実験室保存酵母株および自然界分離酵母株を含む約 1700 株を対象として、酢酸存在下における生育特性を評価した。エタノール発酵特性と併せたプロファイリングを駆使して有用菌株の絞り込みをおこない、高度な酢酸耐性およびエタノール生産性を有する出芽酵母株 (ATCC38555) を同定した。DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析をおこなったところ、弱酸ストレス応答性転写因子 Haa1 と鉄代謝応答性転写因子 Aft1 の標的遺伝子群の発現上昇が見いだされ、これらの転写因子による遺伝子発現制御が酢酸ストレス耐性に関与している可能性が示唆された。特に Haa1 は、その標的遺伝子群の発現が弱酸刺激により上昇すること、*HAA1* 遺伝子破壊株が弱酸感受性を示すことなどが報告されていたため、ATCC38555 株の酢酸ストレス耐性に重要な役割を果たしているのではないかと考えた。そこで、実験室酵母 S288C を用いて、Haa1 の活性化が細胞に酢酸耐性を付与できるかどうかを確かめた。*HAA1* 遺伝子のプロモーター領域を強い転写活性を有する *TDH3* プロモーターに置換し、*HAA1* 遺伝子を過剰発現する株を作成した。定量 PCR 解析により、この株では栄養増殖過程においても *TPO2*, *TPO3*, *YGP1*, *YRO2* といった Haa1 標的遺伝子群の発現が顕著に亢進していることが明らかとなった。さらに *HAA1* 遺伝子過剰発現株では酢酸ストレス耐性が飛躍的に向上しており、野生型株が全く増殖することが出来ない高濃度の酢酸を含む培地でも増殖することができた。また、高濃度の酢酸を含む培地中でも細胞内の酢酸濃度は低く抑えられていたため、*HAA1* 遺伝子の過剰発現は酢酸の細胞外への排出活性または細胞内への流入防止活性を増強することが示唆された。*HAA1* 遺伝子の過剰発現という非常に簡単な操作で強い耐性を付与できるため、この方法は酢酸ストレス耐性株の育種戦略として極めて有用だと考えられる。

Saccharomyces cerevisiae, weak organic acid, stress