

講演番号：3C24a05

講演日時：3月19日 10:20～ C校舎24会場

プロリン蓄積によりストレス耐性が向上したパン酵母変異株の分離と特性解析

Isolation of baker's yeast mutants with proline accumulation that showed enhanced tolerance to baking-associated stresses

Tsolmonbaatar Ariunzaya¹、橋田 恵介¹、杉本 幸子¹、渡辺 大輔¹、古川 周平²、○高木 博史¹ (1奈良先端大バイオ、²オリエンタル酵母工業)

Ariunzaya Tsolmonbaatar¹, Keisuke Hashida¹, Yukiko Sugimoto¹, Daisuke Watanabe¹, Shuhei Furukawa², ○Hiroshi Takagi¹ (1Nara Inst. of Sci. Tech., 2Oriental Yeast Co., Ltd.)

【背景と目的】当研究室では、実験室酵母を用いてアミノ酸の代謝制御や生理機能に着目したストレス耐性機構を解析し、産業酵母の育種に応用することを目指している。現在までに、プロリンによる細胞保護効果や、プロリン・アルギニン代謝を介した一酸化窒素 (NO) の合成亢進による新規なストレス耐性機構を見出している。また、セルフクローニング法によってプロリンまたは NO の合成系を強化したパン酵母が、製パン過程における様々なストレス (冷凍、乾燥、高ショ糖) 下において、良好な製パン特性を示すことを報告している。しかし、遺伝子組換え技術に対する社会的受容性が低いため、このような酵母の実用化は未だに困難な状況にある。そこで、本研究では非遺伝子組換え技術に基づく古典的な育種法によってプロリンやアルギニンを蓄積するパン酵母の変異株を取得するとともに、それらのストレス耐性や製パン性の評価を行うことを目的とした。

【方法と結果】エチルメタンスルホン酸処理によって実用パン酵母 (親株) に突然変異を導入し、プロリンまたはアルギニンの毒性アナログ (アゼチジン-2-カルボン酸 (AZC) またはカナバニン (Can)) に対して耐性を示す変異株を単離した。得られた変異株の中から、親株よりプロリン含量が最大で約 9 倍に、アルギニン含量が最大で約 3 倍にそれぞれ増加した変異株を選抜した。また、製パン関連ストレス (冷凍、高ショ糖) に対して、親株より高い耐性を示す変異株を複数取得した。そこで、プロリン、アルギニンを蓄積するパン酵母の変異株 (10 株) について、ストレス耐性や製パン性を評価した。その結果、高糖生地では 5 株の発酵力が親株に比べて有意に高く (最高で約 60%向上)、高ショ糖耐性の向上も確認できた。また、上記の 5 株は 7 日間凍結後に解凍した冷凍生地での発酵力も親株に比べて高い傾向を示した (最高で約 30%向上)。これらの変異株では、30 日間凍結後に解凍した冷凍生地での発酵力と冷凍初期の発酵力を比較した残存活性も高く、冷凍耐性の向上が確認できた。さらに、各変異株の遺伝子を解析した結果、2 株でプロリン合成の鍵酵素 γ -グルタミルキナーゼ (GK) をコードする *PRO1* 遺伝子に新規なアミノ酸置換 (Pro247Ser, Glu415Lys) を伴う変異を見出した。各 GK 変異体をパン酵母で発現させると、細胞内プロリン含量が野生型 GK 発現株の約 2 倍に増加し、GK 変異体ではプロリンによるフィードバック阻害感受性が低下していた。また、GK 変異体発現株では、冷凍後の細胞生存率が野生型 GK 発現株の約 2-3 倍に増加していた。以上の結果から、プロリンアナログ耐性変異株の取得がパン酵母の育種に有効であることが実証できた (*Int. J. Food Microbiol.*, **238**, 233-240, 2016)。

baker's yeast, proline accumulation, stress tolerance

発表責任者：高木博史 (hiro@bs.naist.jp)