

高温耐性酵母は主役になれるか？

鈴木 俊宏

実験室で幅広く用いられている出芽酵母としては、*Saccharomyces cerevisiae*が有名である。一方、近年に論文数が増加している出芽酵母として、ヨーグルトなどに存在する乳糖発酵性酵母 *Kluyveromyces marxianus* があげられる。この酵母は香気成分を多く作るため、培養液はフルーティーな香りがする。そして、エタノール産生能は *S. cerevisiae* と大差なく、*S. cerevisiae* が生育できない高温条件下でもエタノールを産生することが知られている。近年の論文の多くは、その特徴である高温耐性とキシロース資化能を活かしたバイオエタノール生産に関わる内容である。両者はともに出芽酵母であるが、その特徴は種々の点で異なる。本稿では、出芽酵母研究の主役である *S. cerevisiae* と *K. marxianus* との遺伝子工学的な観点からの差異と、その応用利用についての現状を紹介したい。

S. cerevisiae は遺伝子地図の作製が完了しており、多くの遺伝子の機能も明らかとなっている。また、データベース (*Saccharomyces Genome Database* など) や遺伝子破壊株ライブラリーなどが構築されており、基礎から応用まで研究を行う上で非常に有益なツールがそろっている。一方、*K. marxianus* の全ゲノム配列はいくつか報告されているが¹⁾、公開されている遺伝子地図はなく、*K. marxianus* に特有の遺伝子の機能解析も進んでいない。しかし、*S. cerevisiae* と遺伝的相補性がある遺伝子が報告されており、また、四分分子分析が可能なことから *S. cerevisiae* と同様の遺伝子解析が可能であろう。また、ゲノム全体での比較解析情報が酵母の系統分化の研究にも利用され始めている。

S. cerevisiae が実験室酵母として広く用いられる理由の一つに、高確率な相同組換えを利用した狙った遺伝子の容易な破壊があげられるが、*K. marxianus* では相同組換え効率が非常に悪く、長い相同領域が必要である (前後の相同領域 200 bp で効率が 13%)。代わりに、非相同末端結合の頻度が *S. cerevisiae* と比べて数十倍高いことが知られている。*K. marxianus* において線状 DNA を形質転換すると、このメカニズムを利用して染色体上に高頻度で組込まれる。このメカニズムでは染色体上にランダムに組み込まれるため、狙った遺伝子を破壊する効率は良くない。しかし、この高効率な非相同末端結合のメカニズムを利用した新たな DNA クローニング法として、*K. marxianus* 内での制限酵素を使用しないプラスミド構

築法が報告されている²⁾。

K. marxianus は、菌体からラクターゼを抽出して、乳糖不耐症の人向けのラクトースを分解した牛乳を作るために用いられてきた。その他にも高温耐性かつイヌリン資化能も持つことから、キタイモなどに多く含まれるイヌリンを出発物質とした、食糧と競合しないバイオエタノールや香料の生産などに用いる研究が報告されている³⁾。近年もっとも注目されているのは、木材などのリグノセルロース系バイオマスからのエタノール生産の宿主としての利用である。発酵熱による発酵槽の温度上昇を抑えるためには冷却が必要であり、生産コストを引き上げる要因の一つとなっている。また、糖化酵素は 40–50°C で活性が高いものが多く、発酵槽の温度制御を行わない高温環境下でのエタノール生産が望まれている。β-グルカンをも唯一の炭素源とした発酵においてセルラーゼ細胞表層提示 *K. marxianus* 株は 48°C で 0.55 g/L/h の生産速度であったが、これはセルラーゼ細胞表層提示 *S. cerevisiae* 株の 30°C での生産速度よりも約 1.7 倍速いことが報告されており⁴⁾、バイオエタノール生産の主役となる可能性を持つ。しかし、キシロースからエタノールへの変換能が不十分であり、生産コスト削減のために更なる能力向上が求められている。さまざまな培養条件下での代謝物の流れの網羅的な解析研究による、キシロース代謝経路の中で律速となっている箇所解消が期待される。

ここで紹介したことは一部に過ぎないが、フルーティーな出芽酵母 *K. marxianus* が果たす役割は今後も大きくなると予想する。たとえば、*S. cerevisiae* の遺伝子と相補性を持つものもあるため、個々の遺伝子の機能解明が進めば、*S. cerevisiae* が持っていない形質—たとえば高温耐性やアラビノース資化など—の付与に寄与すると考える。また、工業利用においては発酵熱などの冷却が不要となることでコスト削減が期待されるため、有用形質株の簡易な作製や炭素代謝系の解明などのツールの充実によって利用範囲がさらに広まることを期待する。

- 1) Suzuki, T. *et al.*: *Genome Announc.*, **2**, e00733-14 (2014).
- 2) Hoshida, H. *et al.*: *Yeast*, **31**, 29 (2014).
- 3) Morrissey, J. P. *et al.*: *Yeast*, **32**, 3 (2015).
- 4) Yanase, S. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **88**, 381 (2010).