

乳酸菌のライバルたち

西 瀬 弘

注目される生分解性プラスチックの一つに乳酸が重合したポリ乳酸があり、すでにこれを用いた商品がいろいろ登場している。再生可能な資源として当面、デンプンを原料とする乳酸の大量生産は世界的にも始まりつつあるが、乳酸菌による生産効率の向上を目指して連続発酵や乳酸抽出法などの培養工学的研究が盛んに行われている。乳酸菌はグルコースからの乳酸収率が高く、乳酸発酵の主役であるが、培養特性として、複雑な栄養要求性や生育も比較的遅いことが不利な点としてあげられている。また、生成する乳酸による pH の低下が乳酸菌の代謝や生育に阻害を及ぼすために、中和の工程が必要になること、その場合、生じる塩から乳酸の再回収の工程が必要であったり、pH が高くなると溶媒による乳酸抽出の効率が下がるなどの問題点が挙げられている。¹⁾

これらの問題点を解決するために、培養しやすく、低い pH でも生育できる微生物に乳酸を生産させようと、L-乳酸生産には、*Bacillus* 属細菌や *Rhizopus* 属カビを用いる研究がこれまでに行われている。さらに近年、代謝工学の進展によって、従来 L-乳酸生成能のほとんどなかった酵母^{2,3)}や大腸菌⁴⁾を用いた乳酸生産の報告が続いている。すなわちグルコースからピルビン酸を経由してエタノールや酢酸が生成する代謝をブロックして、外来の乳酸脱水素酵素 (LDH) を発現させ、ピルビン酸から L-乳酸へと代謝を変換させるもので、低い pH でも生育する酵母が乳酸回収には有利とされ、乳酸菌のライバルが続々と登場している。

酵母では、グルコースから生じるピルビン酸がピルビン酸脱炭酸酵素 (PDC) によって、アセトアルデヒドを経由して、エタノールとなる。*Saccharomyces cerevisiae* の場合、²⁾ エタノール生成の流れを乳酸生成に向けるために PDC 遺伝子 1 つ (*PDC1*) を欠損させた宿主株に、ウシ由来 LDH 遺伝子を発現させたところ、嫌気培養により乳酸が 6.5 g/l 生成した。同時にエタノールが 7.5 g/l 生成したが、*S. cerevisiae* にはいくつかの PDC 遺伝子があり、残存している PDC のためと考えられている。またエタノール生成に関連の深い 3 つの PDC 遺伝子

甲子園大学栄養学部 (助教授)

〒665-0006 宝塚市紅葉が丘10-1

Tel: 0797-87-8514 Fax: 0797-87-5666

E-mail: nishise@koshien.ac.jp

http: www.koshien.ac.jp/eiyu/lab/nishise/index.html

1982年 京都大学大学院農学研究科博士課程修了、農学博士

現在の興味：生体触媒を用いるバイオコンビナートの構築

(*PDC1*, *PDC5*, *PDC6*) が共に欠損するとグルコースによる生育ができない。そこで PDC 遺伝子が 1 つで、その欠損によってもグルコースによる生育が可能な *Kluyveromyces lactis* も宿主として選ばれた。³⁾ まず、野生型株にウシ由来 LDH を発現させたところ、4.3 g/l の乳酸が生成したが、エタノールも 3.9 g/l 生成した。そこで PDC 欠損株を宿主として同様に LDH を発現させた形質転換株では 11 g/l の乳酸が得られ、エタノールは検出されなかった。

大腸菌は好氣的にも嫌氣的にも生育が速い。しかし、嫌氣的な生育では、酢酸、エタノール、ギ酸、コハク酸などを同時に生成する。大腸菌には LDH 遺伝子が 3 つあるが、2 つは D,L-乳酸をピルビン酸に、残りの LDH (*ldhA*) は D-乳酸を生成する方向に働く。このような大腸菌に L-乳酸を生産させるために、ピルビン酸から酢酸が生成する経路上のホスホトランスアセチラーゼと LDH (*ldhA*) 両欠損株を宿主に、乳酸菌 *Lactobacillus casei* の L-LDH を発現させた形質転換株が得られた。⁴⁾ 本株は酢酸の生成が減少することによって他の代謝産物のエタノールやギ酸も減少した。好氣的に培養して菌体を得た後、嫌氣的条件に移したところ、45 g/l の L-乳酸が生成できたが、副産物としてコハク酸も乳酸の 12% 生じた。

いずれの形質転換株も、ほとんど L-乳酸を蓄積しなかった宿主株から生み出されたもので、生産効率を向上させ、副産物を少なくするためにはいくつかの改良が必要であるが、「名勝負にライバルあり」の言葉のように、乳酸菌やそのライバルたちの開発競争がすばらしい研究成果の源になることを期待したい。

- 1) 石崎ら：生物工学，76, 451 (1998).
- 2) Adachi, E. et al.: *J. Ferment. Bioeng.*, 86, 284 (1998).
- 3) Porro, D. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4211 (1999).
- 4) Chang, D.-E. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1384 (1999).