



古くて新しい酵母の酸耐性

杉山 峰崇

エタノール生産性が非常に高く、古くよりバイオエタノール発酵に利用されてきた酵母は、バクテリアの多くが酸に弱いのにに対して酸耐性であることが知られている。日本酒造りにおいては、古来より酸耐性を利用したプロセスによって雑菌汚染が防止されてきた。一方、酵母は時には食品保存料として添加される有機酸に対しても耐性を示すことから、腐敗の原因となることも知られている。この良い意味でも悪い意味でも知られる酸耐性が、近年のさまざまな環境問題から普及が切望されているバイオエタノールや植物由来プラスチックの生産コスト低減化に役買いそうであるということから再び注目を集め始めている。

バイオエタノールの原料として木質系バイオマスを糖化して用いる際には、硫酸などの強酸を使用する方法も検討されている。通常であれば得られた糖溶液の中和が必要であるが、酸性条件下でも高いエタノール発酵性を示せば、その工程を簡略化することができる。このような理由から、久松らは、酸性温泉から酸耐性酵母を単離し、硫酸を含むpH 2.0の条件下でもエタノール生産が可能であることを報告している¹⁾。また、酸性条件で発酵を行えば、雑菌汚染を防止できる利点もある。ザイモナス菌の酸耐性変異株を用いたエタノール発酵実験では、非殺菌培地でもpH 4.5以下であれば雑菌汚染が起らなかった。したがって、酸耐性は生産性の低下を引き起こす雑菌汚染を防ぎつつ大規模発酵を可能とすることから、酵母においても生産効率化に重要な因子である。

硬質系バイオマスプラスチックの代表格であるポリ乳酸の原料となる乳酸についても、乳酸菌を用いた乳酸発酵では、培地の中和とその後の乳酸塩の脱塩化処理工程が必要となる。しかし、酵母は乳酸菌に比べて酸耐性であることから、そのような工程を省略できる。そこで、遺伝子組み換え酵母による非中和条件下での乳酸発酵が検討され始めており、乳酸を高生産できることが報告されている²⁾。

酸耐性メカニズムについても関心が高まってきているが、分子レベルではまだまだ不明な点も多い。その中でも最も理解が進んでいる耐性機構の一つが、食品保存料である安息香酸やソルビン酸に対する応答である。非解離状態で進入した脂溶性のモノカルボン酸であるソルビン酸 (pKa. 4.8) は、pHが中性付近である細胞内で解離する。その結果、プロトンによる細胞質pHの低下やソル

ビン酸アニオンの蓄積により生育阻害効果を発揮する。これに対して、プロトン排出には細胞膜局在のプロトンポンプであるPma1pを活性化させて、一方、アニオン排出には転写活性化因子War1pを通じたマルチドラッグトランスポーターをコードするPDR12を発現誘導することにより耐性度を上昇させることが分かっている³⁾。

一方、同様に細胞内で解離して生育阻害効果を発揮する酢酸 (同じくpKa. 4.8) に対しては異なる機構で対応しているようである。酢酸は草本・木質系バイオマスの糖化処理における過分解によっても生成する発酵阻害物質であることが知られている。ごく最近の報告によると、細胞膜に局在する水やグリセロールのチャネルであるアクアグリセロポリンFps1pが酢酸の流入口の一つであるらしい。しかし、酢酸ストレスを加えると、活性化されたMAPキナーゼHog1pによってリン酸化される。そうすると、Fps1pはユビキチン化を受けエンドサイトーシス経路で速やかに分解され、これによって酢酸の流入が抑えられる⁴⁾。実際、 $\Delta fps1$ 破壊株は野生型株以上に酢酸耐性を示すことから、ソルビン酸の場合とは異なり、積極的に流入口を分解することにより耐性を獲得していると考えられる。

液胞型プロトンポンプは酢酸や乳酸だけでなく塩酸ストレス耐性にも必須である⁵⁾。液胞型プロトンポンプはPma1pの正常な局在維持に加えて、液胞へプロトンを隔離することで、細胞質pHの恒常性を維持する。そこで、酸による過剰なプロトンの隔離も耐性化に重要と思われる。また、赤瀬らによると、機能未知のトランスポーター様のEsbp6pや転写因子Haa1pの過剰発現によって酢酸や乳酸に耐性となることが報告されている⁶⁾。遺伝子の発現強化は、すでに使用されている実用株にも比較的簡単に酸耐性を付与できることから、産業的にも特に重要である。今後、これらの酸耐性付与機構が解明され利用されれば、低炭素社会の構築がいっそう促進されると期待される。

- 1) Hisamatsu, M. *et al.*: *J. Appl. Glycosci.*, **53**, 111 (2006).
- 2) Ishida, N. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 1964 (2005).
- 3) Kren, A. *et al.*: *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 1775 (2003).
- 4) Mollapour, M. and Piper, P. W.: *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 6446 (2007).
- 5) Kawahata, M. *et al.*: *FEMS Yeast Res.*, **6**, 924 (2006).
- 6) 赤瀬ら：日本生物工学会大会講演要旨集, p.124 (2008).