

食酢醸造に関わる解糖系のオーバーフロー代謝

桜井 健太

酢酸菌はエタノールを二酸化炭素にまで完全に酸化せず、不完全酸化により培地中に酢酸を蓄積する性質がある(図1)。不完全酸化は膜結合型のアルコールデヒドロゲナーゼとアルデヒドデヒドロゲナーゼによって触媒される。培養液中のエタノールが枯渇すると、蓄積した酢酸はTCA回路で完全酸化されることがあり、過酸化と呼ばれている。近年、酢酸菌の分子生物学的な情報の整備が急速に進められており、従来の酵素学的な解析では得られなかった酢酸菌の特異性が解明されてきた。基準株の*Acetobacter aceti* NBRC14818のトランスクリプトーム解析により、エタノールの存在時にはTCA回路を構成する酵素遺伝子の発現が極度に抑制されることが示されており、TCA回路の代謝フローが減少する。これにより細胞内のアセチルCoAが代謝されずにたまり、酢酸からアセチルCoAへの変換が抑制されることが、不完全酸化時における酢酸蓄積の原因の一つと考えられる¹⁾。大腸菌では解糖の代謝フローがTCAサイクルよりも速く、ピルビン酸やアセチルCoAが過剰になるため好気条件ではグルコースから酢酸を生成することが知られており、オーバーフロー代謝と呼ばれている。酢酸菌*Gluconobacter oxydans*でも、膜結合型グルコースデヒドロゲナーゼ変異株においてオーバーフロー代謝によってグルコースから酢酸を生成する²⁾。前述の*A. aceti* NBRC14818のエタノールによるTCA回路遺伝子の抑制はグルコースの有無によらないことが示されており、エタノールとグルコースが共存する培養条件では、TCA回路が抑制されてグルコースからのオーバーフロー代謝が起こると予想される。グルコース由来の酢酸、アセチルCoAが細胞内で蓄積するために、グルコースの共存下では細胞外に生産されたエタノール由来の酢酸の過酸化がさらに抑制される可能性が考えられる(図1)¹⁾。*A. aceti* NBRC14818ではこの条件でピルビン酸デカルボキシラーゼが高発現するため、グルコースはアセトアルデヒド経由で酢酸に変換されると考えられる。一方、食酢醸造に利用されている*A. pasteurianus* NBRC3283には、*A. aceti* NBRC14818が持っていないピルビン酸代謝関連遺伝子が複数存在し、エタノールとグルコースを含む培地ではNBRC14818とは逆にピルビン酸デカルボキシラーゼの発現が低下するため、生育阻害の原因となるアセトアルデヒドが蓄積しないと予想される³⁾。

鹿児島県霧島市福山町では伝統的な壺造り純米黒酢醸造が行われている。使用する原料は蒸し米、米麴、地下水のみで麴菌以外の微生物は添加していない。壺は洗浄して繰り返し醸造に使用されており、壺の内壁に留まった酢酸菌が次の発酵に関わると考えられている。醸造開始前の壺内壁からは*A. pasteurianus*や*A. aceti*をはじめとするさまざまな酢酸菌が単離される⁴⁾。一方、発酵液から単離される酢酸菌のほとんどは*A. pasteurianus*である⁵⁾。*A. pasteurianus*の優占化はなぜ起きたのだろうか。発酵液にはエタノールとグルコースが共存する。前述の*Acetobacter*属菌株間のピルビン酸代謝関連遺伝子の構成と発現パターンの違いから、*A. aceti*ではグルコースのオーバーフロー代謝により細胞内でアセトアルデヒドが生成するのに対して*A. pasteurianus*では生成せず、この違いが発酵液での優占化に影響したと予想される。実際に、醸造開始時に*A. aceti* NBRC14818株を添加し、経時的に*A. aceti*と*A. pasteurianus*の存在比を調べた結果、*A. pasteurianus*の割合が徐々に増え、最終的には*A. aceti*が発酵液からほとんど排除された⁵⁾。エタノールや乳酸といった外的ストレスに対する耐性の違いだけでなく、ピルビン酸代謝の構成や発現制御といった内的要因も、酢酸菌の生態学的な動態を決定する要素なのかもしれない。

鹿児島県霧島市福山町では伝統的な壺造り純米黒酢醸造が行われている。使用する原料は蒸し米、米麴、地下水のみで麴菌以外の微生物は添加していない。壺は洗浄して繰り返し醸造に使用されており、壺の内壁に留まった酢酸菌が次の発酵に関わると考えられている。醸造開始前の壺内壁からは*A. pasteurianus*や*A. aceti*をはじめとするさまざまな酢酸菌が単離される⁴⁾。一方、発酵液から単離される酢酸菌のほとんどは*A. pasteurianus*である⁵⁾。*A. pasteurianus*の優占化はなぜ起きたのだろうか。発酵液にはエタノールとグルコースが共存する。前述の*Acetobacter*属菌株間のピルビン酸代謝関連遺伝子の構成と発現パターンの違いから、*A. aceti*ではグルコースのオーバーフロー代謝により細胞内でアセトアルデヒドが生成するのに対して*A. pasteurianus*では生成せず、この違いが発酵液での優占化に影響したと予想される。実際に、醸造開始時に*A. aceti* NBRC14818株を添加し、経時的に*A. aceti*と*A. pasteurianus*の存在比を調べた結果、*A. pasteurianus*の割合が徐々に増え、最終的には*A. aceti*が発酵液からほとんど排除された⁵⁾。エタノールや乳酸といった外的ストレスに対する耐性の違いだけでなく、ピルビン酸代謝の構成や発現制御といった内的要因も、酢酸菌の生態学的な動態を決定する要素なのかもしれない。

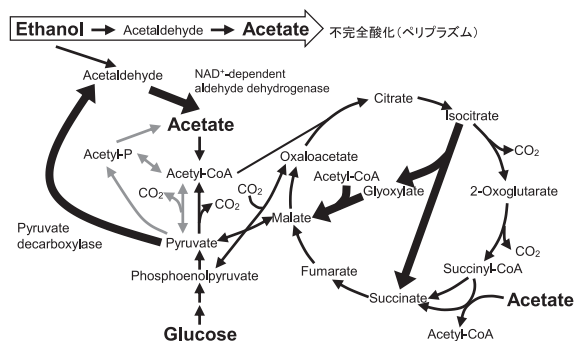


図1. エタノールとグルコースの共存時の*A. aceti* NBRC14818の中央炭素代謝遺伝子の発現様式。太線は遺伝子発現の増大を示す。灰色の線は食酢醸造株*A. pasteurianus* NBRC3283が持っているピルビン酸代謝関連遺伝子の触媒箇所を示す。

- 1) Sakurai, K. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **115**, 32 (2013).
- 2) Krajewski, V. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 4369 (2010).
- 3) 新井博之ら：第6回酢酸菌研究会講演要旨集，演題11 (2015).
- 4) Haruta, S. et al.: *Int. J. Food Microbiol.*, **109**, 79 (2006).
- 5) 菅原主悟ら：日本農芸化学会大会講演要旨集，4A08a02 (2014).