

# 719 様々なメタノール濃度下におけるメチロトロフ酵母*Pichia methanolica*のメタノール代謝酵素群の誘導解析

○水村祐、中川智行、合田容子、宮地竜郎、富塚登(東農大・生物産業・食品科学)

<目的>メチロトロフ酵母のメタノール代謝はアルコールオキシダーゼ(AOD)によるメタノールのホルムアルデヒド(FA)への酸化により開始し、そのFAは酸化経路のジヒドロキシアセトンシンターゼ(DHAS)と酸化経路のFAデヒドロゲナーゼ(FLD)によって代謝される。FAは非常に強い毒性を示す代謝中間体であり、生体内においてはその濃度を低くおさえる必要がある。本研究ではFA代謝に関与するAOD、DHAS、FLDに着目し、3つの酵素のメタノールに対する誘導制御を中心に解析を行い、*P. methanolica*のメタノール代謝の特性について検討した。

<方法及び結果>AOD、DHAS、FLDの誘導を種々のメタノール濃度について解析した。AODの誘導は0.25%を最大に高濃度では減少するのに対し、DHAS、FLDの誘導はメタノール濃度の上昇に応じて増加した。一方、*P. methanolica*は2種類のAODサブユニットを持ち、その発現応答の相違が報告されている。そこで両AOD遺伝子のメタノール濃度に対する発現制御について詳細な解析を行った。その結果、低メタノール濃度下ではメタノールに対する親和性が高いMod1pが主に誘導され、濃度の上昇に伴いKm値の高いMod2pの誘導が支配的になった。以上のことから*P. methanolica*はメタノール代謝において生体内のFA量を調節する為に生育環境に応じてAODサブユニットを使い分け、さらに高メタノール環境下ではFA代謝酵素DHAS、FLDをより多く誘導させることによってFAをより円滑に代謝しようとしていることと考えられる。

Effect of methanol concentration on induction of methanol-methabolism enzymes in the methylotrophic yeast *Pichia methanolica* ○Mizumura, T., Nakagawa, T., Goda, Y., Miyaji, T., Tomizuka, N. (Dept. of Food Sci. and Tech. Tokyo Univ. of Agri.)

<Key words>*Pichia methanolica*, methylotrophic yeast, methanol metabolism, alcohol oxidase

# 720 細菌における 2,3-ブタンジオールサイクルの生理的意義 (山梨大・工・物質生命)

○保坂毅、宇井定春、大槻隆司、三村精男

【目的】 多数の不斉点を持つ光学活性な化合物の化学合成が要求される今日、2,3-ブタンジオール (BD) 等のアセトイン系化合物の立体異性体を化学合成のキラルパーツとして利用することが期待されている。しかしながら、BD 立体異性体に関しては、有機化学的プロセスによる単一異性体の調製が煩雑なため、細菌を用いた発酵生産に注目が集まっている。発酵法による BD 立体異性体生産は、*Klebsiella pneumoniae* のような代表的な BD 生成菌において、その異性体生成機構が明らかとなっているものの、効率的で安定な BD 立体異性体生産を目指す場合、特にバイオマスからの生産を目標とする時、より広範な関連遺伝子源の確保やその代謝経路の解明、及びホスト菌の構築が必要となる。以上の背景のものに、本研究では、細菌における BD 生成関連代謝のうち、これまでにごく僅かな知見しか得られていない BD サイクルと呼ばれる経路について、その生理的意義と制御機構の解明を試みた。

【方法及び結果】 BD サイクルの鍵酵素であるアセチルアセトイン合成酵素 (AACS) を指標として、細菌における BD サイクルの分布状況を調べ、どのような菌種に存在する代謝経路であるのかを検討した。その結果、BD サイクルは特定の菌種に局在するものではなく、広範な菌種に分布することが明らかとなった。次に、BD サイクルの存在が確認された菌株の内、最も高い AACS 活性を示した *Bacillus cereus* YUF-4 を用いて、培養及び酵素レベルでの検討から、この細菌における BD サイクルを検証した。その結果、既知の BD 立体異性体生成系とは異なる、新たな異性体生成機構を見出した。また、BD サイクル関連酵素遺伝子のクローニングを行い、各酵素遺伝子の存在環境を調べることにより BD サイクルの制御機構についても考察した。

Physiological consideration on 2,3-butanediol cycle in bacteria.

○Takeshi Hosaka, Sadaharu Ui, Takashi Ohtsuki, Akio Mimura  
(Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Yamanashi Univ.)

【Keywords】 2,3-butanediol, 2,3-butanediol cycle, stereoisomer, *Bacillus cereus*