

723 キシラナーゼ・キシロシダーゼ細胞表層共提示酵母によるキシランの分解
○片平悟史¹, 藤田靖也², 植田充美³, 田中渥夫³, 岡田宏文⁴, 森川 康⁴, 福田秀樹², 近藤昭彦¹ (¹神戸大・工・応化, ²神戸大院・自・分子集合, ³京大院・工・生化, ⁴長岡技科大・生物)

【目的】木質系セルロース資源のエネルギー原料や化学原料としての利用は、エネルギー問題や環境問題を解決する手段の一つとして注目されている。木質系セルロース資源はセルロース以外にもヘミセルロースやリグニンなどの様々な成分を含んでおり、木質系セルロース資源を分解利用する際にはこれらの分解も必要となる。そこで本研究ではヘミセルロースの主成分であるキシランに注目し、これを分解する酵素を酵母の細胞表層に提示することでキシランの分解が可能な酵母の創製を試みた。
【方法及び結果】*Trichoderma reesei* 由来のキシラナーゼ II(XYNII) 及び *Aspergillus oryzae* 由来の β -キシロシダーゼ(XylA)を細胞表層に提示するプラスミド pWCSxynII と pUCSxylA を構築した。得られた発現ベクターを酵母 *Saccharomyces cerevisiae* MT8-1 に導入し、XYNII 及び XylA を共発現させた (MT8-1/[pWCSxynII, pUCSxylA])。XYNII・XylA 共提示酵母のプレートアッセイ及びキシラン加水分解活性の測定により、共提示酵母はキシラン分解能を賦与されたことが確認され、また TLC によるキシラン加水分解産物の分析により、主な分解産物はキシロースであることが確認された。

Xylan degradation by recombinant yeast strain displaying xylanolytic enzymes on the cell surface
○ Satoshi Katahira¹, Yasuya Fujita², Mitsuyoshi Ueda³, Atsuo Tanaka³, Hirofumi Okada⁴, Yasushi Morikawa⁴, Hideki Fukuda², Akihiko Kondo¹ (¹Dept. Chem. Sci. Eng., Kobe Univ., ²Div. Mol. Sci., Grad. Sch. Sci. Tech., Kobe Univ., ³Dept. Syn. Chem. Biol. Chem., Grad. Sch. Eng., Kyoto Univ., ⁴Dept. Bioeng., Nagaoka Univ. Technol.)
Key words xylan, xylanase, β -xylosidase, cell surface, yeast, whole cell biocatalyst

725 細胞表層共発現によるセルラーゼ・アーミング酵母のセルロース分解能の向上
○藤田靖也¹, 植田充美², 田中渥夫², 岡田宏文³, 森川 康³, 福田秀樹¹, 近藤昭彦⁴ (¹神戸大・院・自・分子集合, ²京大院・工・生化, ³長岡技科大・生物, ⁴神戸大・工・応化)

【目的】セルロース系バイオマス資源は、地球上に最も多量に存在する再生産可能なバイオマス変換エネルギーとして脚光を浴びており、中でも発酵法により得られるエタノールはクリーンなエネルギーとして注目されている。本研究では、酵母細胞表層にセルラーゼを共発現させることにより、不溶性であるセルロースを効率よく分解できる酵母菌体触媒の開発を試みた。
【方法及び結果】糸状菌 *Trichoderma reesei* 由来エンドグルカナーゼ II (EGII) とセロビオヒドロラーゼ II (CBHII) をそれぞれ α -アグルチニンとの融合タンパク質として酵母 *Saccharomyces cerevisiae* MT8-1 の細胞表層に共発現させた。蛍光抗体染色した酵母細胞を蛍光顕微鏡による観察やフローサイトメトリーにより、EGII と CBHII の表層提示を確認した。リン酸膨潤セルロースに対する活性測定を行ったところ、EGII-CBHII 共発現酵母は、EGII 発現酵母に比べて非常に高い活性を示した。また、CBHII 発現酵母では還元糖が検出されないが、EGII との共発現により相乗的に分解能が向上した。以上の結果から、EGII-CBHII 共発現により不溶性セルロースに対して分解活性の向上した高機能酵母を創製できることが明らかとなった。

Improvement of cellulose-degrading ability of cellulase-arming yeast by cell-surface co-expression
○ Yasuya Fujita¹, Mitsuyoshi Ueda², Atsuo Tanaka², Hirofumi Okada³, Yasushi Morikawa³, Hideki Fukuda⁴, Akihiko Kondo¹ (¹Div. Mol. Sci., Grad. Sch. Sci. Tech., Kobe Univ., ²Dept. Syn. Chem. Biol. Chem., Grad. Sch. Eng., Kyoto Univ., ³Dept. Bioeng., Nagaoka Univ. Technol., ⁴Dept. Chem. Sci. Eng., Kobe Univ.)
Key words cellulose, endoglucanase, cellobiohydrolase, yeast, cell surface, whole-cell biocatalyst

724 パン酵母の解糖系を利用するグルコースからの 2-デオキシリボース 5 リン酸 (DR5P) の効率生産
○堀之内伸行, 酒井隆文, 川野貴子, 小川 順, 清水 昌 (京大院・農・応生科)

【目的】2-デオキシリボスクレオシドは (dNS) は PCR の普及、アンチセンス医薬や抗ウイルス剤の開発に伴い、その需要の拡大が期待されている。我々は dNS 生産の鍵となる 5-デオキシリボース 5 リン酸 (DR5P) を安価な原料から酵素合成するプロセスを検討しており、目的にかなう酵素アルドラーゼ (2-deoxyribose 5-phosphate aldolase; DERA) を高発現する大腸菌 (pTS 8/10 B 5 株) を構築している。本研究では DERA 反応の基質となるトリオースリン酸を酵母解糖系を用いて供給し、アセトアルデヒドとのアルドール縮合反応により DR5P を経済的かつ効率的に合成することを検討した。
【方法・結果】フルクトース 1,6-2 リン酸 (FDP) やトリオースリン酸などの解糖系の中間体は DERA 高発現大腸菌の解糖系を経て DERA 反応の基質である D-グリセルアルデヒド 3 リン酸へと変換された。これら解糖系中間体の供給に、パン酵母の発酵エネルギーを利用することを検討し、反応条件の最適化を試みた。トルエン処理パン酵母菌体を用いる最適条件下では、触媒量の AMP 添加のもと、高濃度のグルコース 1.2 M とリン酸緩衝液 0.75 M から約 600 mM の FDP を含むグルコース発酵液を調製することができた。このグルコース発酵液とアセトアルデヒドを基質とした DERA 反応により約 200 mM の DR5P を生産することができた。

Efficient production of 2-deoxyribose 5-phosphate from glucose using glycolysis of baker's yeast
○ Nobuyuki Horinouchi, Takafumi Sakai, Takako Kawano, Jun Ogawa, Sakayu Shimizu (Div. Appl. Life. Sci., Kyoto Univ.)

Key words 2'-deoxyribonucleoside, 2-deoxyribose 5-phosphate, aldolase, yeast, glycolysis, ATP

726 アミラーゼ細胞表層・分泌発現酵母を用いた無蒸煮デンブンプンからのエタノール発酵
○高 潤¹, 茂地寿頼¹, 佐藤英一², 植田充美³, 田中渥夫³, 福田秀樹⁴, 近藤昭彦¹ (¹神戸大・工・応化, ²東京農大・応生, ³京大院・工・生化, ⁴神戸大院・自・分子集合)

【目的】近年、地球環境問題等に対応したバイオマス変換エネルギーが注目を浴びているが、中でも発酵法により生産されるバイオエタノールの開発が早急に望まれている。本研究では、デンブンプン分解酵素であるアミラーゼを酵母の細胞表層もしくは分泌発現するアーミング酵母を育種し、無蒸煮デンブンプンからの高効率エタノール生産プロセスの構築を目的とした。
【方法及び結果】生デンブンプンに対し卓越した分解能力をもつ *Streptococcus bovis* 148 由来 α -アミラーゼと *Rhizopus oryzae* 由来グルコアミラーゼを細胞表層もしくは分泌発現するアーミング酵母を構築し、エタノール発酵実験を行った。その結果、 α -アミラーゼを分泌発現、グルコアミラーゼを表層発現させた酵母では、無蒸煮デンブンプンより高効率にエタノールを生産できることが明らかとなった。

Ethanol fermentation from raw starch by yeast strains displaying and secreting amylases
○ Jun Koh¹, Hisayori Shigechi¹, Eiichi Satoh², Mitsuyoshi Ueda³, Atsuo Tanaka³, Hideki Fukuda⁴, Akihiko Kondo¹ (¹Dept. Chem. Sci. Eng., Kobe Univ., ²Dept. Apl. Biol. Chem., Agric. Tokyo Univ., ³Dept. Syn. Chem. Biol., Grad. Sch. Eng., Kyoto Univ., ⁴Div. Mol. Sci., Grad. Sch. Sci. Tech., Kobe Univ.)

Key words ethanol fermentation, raw starch, amylase