The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

1Ep09　*Rhizopus oryzae* における各種炭素源の発酵性評価

○斎藤 勝一, 橋本 直人, 波佐 康弘, 西尾 善太, 山内 宏昭
（農研機構・北農研）

【目的】地球温暖化などを背景に、各種バイオマス資源からのバイオ燃料、石油代替品の生産が急務となっている。*Rhizopus oryzae*は、グルコースからの乳酸、エタノールの発酵能に加えて、ペントースであるキシロースの発酵能も有しており、多様な糖類で構成されるバイオマスの利用上、新たな発酵菌種として非常に有望な菌種である。本研究では、本菌による糸状菌発酵技術の開発に向けて、*R. oryzae* 各菌株の各種炭素源の発酵性、糖資化性の評価を行った。
【方法】NBRC保有の*R. oryzae* 56株を用い、100 ml三角フラスコ中、2%炭素源、0.67%Yeast Nitrogen Base w/o Amino Acids、0.5% カザミノ酸の液体培地50 mlによる25℃、5日間の振盪培養を行い、培養後の上清をHPLC、TLCにより残糖、生成有機酸等の分析を行った。
【結果】はじめに乳酸＋エタノール生成型の*R. oryzae* NBRC4707株、フマール酸＋エタノール生成型の*R. oryzae* NBRC4747株の2株を用い、各種炭素源の発酵性を評価した結果、単糖に関しては酵母が発酵できないマンノースやキシロースをはじめ幅広い糖類からの乳酸、エタノールの生成が確認できた。二糖、オリゴ糖類については、マルトース、トレハロースの発酵に加え、微量であるが、セロビオース、ゲンチオオリゴ糖の発酵性も確認できた。現在、他菌株の発酵性評価と乳酸、エタノールの定量解析を行っている。

Evaluation of fermentation ability of various carbon sources in *Rhizopus oryzae*

○katsuichi saito, naoto hashimoto, yasuhiro hasa, zenta nishio, hiroaki yamauchi
(Natl. Agric. Res. Cent. for Hokkaido Region)

Key words *Rhizopus oryzae*, lactic acid, ethanol, fungal fermentation

1Ep10　分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を用いた乳酸生産

○原 太志, 東田 英毅, 浜 祐子
（旭硝子・ASPEX）

現在、化石資源への過度の依存が大きな問題として認識されている。この問題はエネルギー的な依存と、プラスチックに代表されるマテリアル的な依存に分けられる。これらの問題を解決するため、石油資源に代わりバイオマスを用いるという戦略が世界的に採られている。バイオマス由来の代替品としてバイオエタノールやポリ乳酸 (PLA) が実用化され始めているが、PLAの商業化は立ち遅れているのが現状である。その理由の一つとしてPLAの材料となる乳酸のコスト高が挙げられる。現在の主要な乳酸生産は乳酸菌を用いた乳酸発酵である。それらの乳酸発酵において中和が必要である事と、得られた乳酸の光学純度が不十分である事が精製コストを高騰させている。本研究では耐酸性が強く、乳酸発酵を行わない分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の遺伝子を改変し乳酸発酵を行う変異体株を得ることを目的としている。これにより乳酸をより安価に生産する事が可能となる。
*S. pombe*にヒト由来のLDHを組込んだ株を用いて、12%のグルコースを含むYPD培地で中和せずに培養を行った。この際の対糖収率は50%であった。この値は乳酸菌に比べ低く、その原因として本来の経路であるエタノール発酵の存在が考えられる。そこで対糖収率を上げるべく、エタノール発酵関連酵素郡の欠損変異体を作製した。各欠失変異体のDNAマイクロアレイデータと生育速度から、主として働く酵素や補完するための酵素があることが判明した。これらの結果や新規に開発した継代安定性の高いゲノム組込み法などを用いる事により、フラスコレベルの培養で対糖収率、生産性ともに高い変異株を得る事に成功した。本研究の一部はNEDOプロジェクトによって行われた。

Lactate production using *Schizosaccharomyces pombe*

○Futoshi HARA, Hideki TOHDA, Yuko GIGA-HAMA
(Asahi Glass Co., LTD., ASPEX Div.)

Key words lactic acid, yeast, metabolic engineering, fermentation

1Ep11　高糖濃度耐性を示す出芽酵母変異株の解析と有用性の検討

○中川 洋史[1], 貝瀬 美央[2], 千葉 寛志[1], 早川 正幸[1], 飯村 穣[1]
（[1]山梨大院・医工総合・生命, [2]山梨大・工・生命工）

【目的】バイオエタノールの生産においては、高糖濃度環境下における酵母の発酵力や生育の低下が問題となる。一方、ワイン醸造やパン製造においても、高糖濃度のブドウ果汁やパン生地を用いた場合、発酵不良がしばしば問題になる。それゆえ、酵母の高糖濃度耐性能を強化する技術が強く求められているが、高糖濃度環境への適応機構には不明な点が多く、その技術は未だ確立されていない。そこで、本研究においては出芽酵母の高糖濃度耐性突然変異株を取得し、その遺伝学的背景と耐性機構、及びエタノール発酵における有用性を検討した。
【方法及び結果】変異処理により、50%(w/v) のグルコースを含む高糖濃度平板培地において良好な生育を示す出芽酵母変異株を取得した。遺伝学的解析の結果、本変異株が有する高糖濃度耐性変異は一遺伝子変異でかつ半優性変異であった。本変異株はソルビトールを高濃度に含む培地においても良好な生育を示したことから、本変異は少なくとも高浸透圧耐性機構に関与していることが明らかになった。また、本変異株は高糖濃度環境下において野生型株よりも顕著に高い細胞内グリセロール含量を示したことから、細胞内に効率良くグリセロールを蓄積することが示唆された。本変異株を用いて液体培養におけるエタノール発酵試験を行った結果、本変異株は高糖濃度環境下において野生型株に比べて顕著に良好な発酵力を示したことから、本変異は高糖濃度環境下における発酵力の改善に有用であることが示唆された。

Analysis of the high sugar-tolerant mutant of *Saccharomyces cerevisiae* and its utility

○Youji NAKAGAWA[1], Mio KAISE[2], Hiroshi CHIBA[1], Masayuki HAYAKAWA[1], Yuzuru IIMURA[1]
([1]Dept. Biotech., Grad. Sch. Med. Eng., Univ. Yamanashi, [2]Dept. Biotech., Univ. Yamanashi)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, mutation, high sugar tolerance, genetic analysis

1Ep12　遺伝子破壊によるストレス耐性実用パン酵母の育種

○安藤 聡[1], 高木 博史[2], 島 純[1]
（[1]食総研, [2]奈良先端大・バイオ）

パン酵母の製造や製パン過程において、パン酵母には過酷なストレス（製パンストレス）が負荷される。製パンストレスには、ドライイースト製造における乾燥ストレスや菓子パン生地に添加される高濃度のショ糖による高浸透圧ストレス等が含まれ、これらはパン酵母の発酵力低下の原因となる。我々は現在までに、優れた製パンストレス耐性を有するパン酵母の作出に向けて、酵母のストレス耐性関連遺伝子に着目したポストゲノム解析を行ってきた。本大会では、実験室酵母の遺伝子破壊株コレクションを用いた網羅的表現型解析を基盤とした、遺伝子破壊によるストレス耐性実用パン酵母の育種の試みについて報告する。まず、網羅解析の結果、ストレス耐性を示した破壊株における破壊遺伝子を、実用パン酵母における破壊対象遺伝子として選定した。実用パン酵母より遺伝子破壊株を作製し、その発酵力を製パンストレス負荷条件において評価したところ、アルデヒド脱水素酵素をコードする *ALD2* 遺伝子等の破壊がストレス耐性パン酵母の育種に有効である可能性が示唆された（本研究は生研センター基礎研究推進事業の助成を受けて実施したものである）。

Molecular breeding of stress-tolerant baker's yeast by way of gene disruption

○Akira ANDO[1], Hiroshi TAKAGI[2], Jun SHIMA[1]
([1]Natl. Food Res. Inst., [2]Grad. Sch. Biol. Sci., NAIST)

Key words baker's yeast, stress tolerance, deletion strain collection

NII-Electronic Library Service