

2P-2041 乳酸を資化・発酵できる実用酵母の構築：非解離型乳酸資化性酵母の性質

○若松 誠¹, 木田 建次², 田口 久貴¹, 赤松 隆¹
(¹崇城大・生物生命・応微工,²熊大院・自然科学)

【目的】エタノール・メタン二段発酵により都市型バイオマスである生ごみから効率的に燃料用エタノールを製造することを目的に、非解離型乳酸を資化できる実用酵母を構築する。【方法と結果】耐熱性・耐酸性で掛け合わせができ形質転換能にも優れたエタノール発酵用実用酵母NAM34-4Cおよび実験室酵母のD-乳酸、L-乳酸、D,L-乳酸に対する資化性を最少培地で調べた。乳酸のpKa (3.78) 近傍のpH 3.5では、NAM34-4Cの増殖は認められたが、S288Cは増殖しなかった。また、D-乳酸での増殖が最も良く、D, L-乳酸とL-乳酸では、長い増殖遅延の後に増殖が見られ、L-乳酸の増殖速度が最も遅かった。解離型乳酸が多いpH 5.5では、S288Cも長い増殖遅延と非常に遅い増殖速度ではあるが増殖が認められ、かつD-乳酸の方がL-乳酸よりも増殖が良かった。NAM34-4Cでの増殖速度は、pH3.5と極めて似ており、pH 3.5でのL-乳酸培地で見られた極端な増殖遅延は見られなかった。以上のことから、非解離型L-乳酸が細胞内に取り込まれると顕著な増殖遅延が見られ、D-乳酸ではそのような遅延はほとんど見られないことが分かった。また、D-乳酸の方がL-乳酸よりも明らかに資化性に優れており、乳酸からのエタノール発酵にはD-乳酸が優れていることが予想できた。

Fuel ethanol production of the industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain NAM34-4C with lactic acid: assimilation of lactic acid

○Makoto WAKAMATSU¹, Kenji KIDA², Hisataka TAGUCHI¹, Takashi AKAMATSU¹

(¹Dept. Microb. Technol., Fac. Biotechnol., Life Sci., Sojo Univ.,²Grad. Sch. Sci. Tech., Kumamoto Univ.)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, ethanol fermentation, lactic acid, assimilation

2P-2043 キシロースを資化・発酵できる実用酵母の構築：高濃度キシロース耐性突然変異体の分離とその解析

○嶋作 和也¹, 木田 建次², 田口 久貴¹, 赤松 隆¹
(¹崇城大・生物生命・応微工,²熊大院・自然科学)

【目的】グルコースとキシロースからエタノール生産するために、キシロースを構成的に細胞内に輸送でき(キシロース輸送:XT)、キシロースをキシロース-5-リン酸に代謝できる(キシロース代謝:XM)実用酵母を構築している。また、キシロース代謝が向上(HEX)した株も分離している。しかしながら、高濃度のキシロースに対しては、増殖阻害が生じる。そこで、高濃度キシロース耐性突然変異体を分離し、遺伝学的に解析する。【方法と結果】XM XT HEX株は、50 g/Lのキシロース濃度培地で増殖阻害が生じた。そこで、この濃度で増殖が改善された突然変異体を2個分離した。突然変異を解析するために、XM XT HEX株と突然変異体を掛け合わせ、二倍体を分離した。キシロース培地で培養したところ、二倍体は増殖阻害を示さなかった。従って、突然変異遺伝子は野生型対立アレルに対し、いずれも優性であると結論した。また、突然変異体に関して4孢子解析をすると、増殖の良い株と増殖の悪い親株と同程度の株がいずれも2+:2-で分離した。このことから、突然変異遺伝子は1遺伝子変異であることを認めた。この突然変異をそれぞれSXM-1とSXM-2と名付けた。両者が同じ遺伝子内の変異であるかどうかアレリズム試験を行っている。また、少なくともSXM-1変異は、セントロメアに関連していた。

Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* mutant leading to resistance on high concentration of xylose

○Kazuya SHIMASAKU¹, Kenji KIDA², Hisataka TAGUCHI¹, Takashi AKAMATSU¹

(¹Dept. Microb. Technol., Fac. Biotechnol., Life Sci., Sojo Univ.,²Grad. Sch. Sci. Tech., Kumamoto Univ.)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, ethanol fermentation, high concentration of xylose, xylose-resistance

2P-2042 次世代シーケンサーによる変異部位特定に供する実用酵母の同質遺伝子系統株の構築

○富高 正貴¹, 木田 建次², 田口 久貴¹, 赤松 隆¹
(¹崇城大・生物生命・応微工,²熊大院・自然科学)

【目的】耐熱性・耐酸性・掛け合わせ・形質転換に優れたエタノール発酵用実用酵母NAM34-4Cからグルコース・キシロース同時発酵性酵母を構築し、キシロース代謝向上変異を取得後、変異部位を解析しているが、同質遺伝子系統株でないため塩基配列の違いが多い。そこで、同質遺伝子系統株を分離することを目的とする。【方法および結果】NAM34-4Cの*ura3::kanmx* DNAによるG418耐性転換体NAM201を分離した。集団接合を行ったが、G418耐性変異一倍体の出現が多く、二倍体を見いだせなかった。そこで、*leu2::kanmx*遺伝子型のNAM203転換体を構築し、NAM201との間で集団接合せ、最少培地で二倍体を選択し、数個の候補株を分離した。この株を種々の孢子形成培地で培養したところ、ひとつの培地でわずかではあるが孢子形成を認めた。4孢子揃った子囊孢子はなかったが、マイクロニプレーターで解剖しクローンを得た。この中からプロトトフで接合能の良い株を選択したところ2株のα株を得た。次に、この株のPHO87-*kanmx*-MATa-TAF DNAによる転換体を得た。G418耐性転換体を多数分離し、光学顕微鏡下で二倍体候補株を選び、4分子解析し、2MATa:2MATαに分離する株を得た。この中から、NAM34-4Cの同質系統株、SC10001 (MATa PHO87::*kanmx*)とSC10002 (MATα)を得た。

Construction of the isogenic strain of an industrial yeast *Saccharomyces cerevisiae* NAM34-4C with heterothallism, thermo-tolerance, acid-tolerance, transformability, and the property applicable for standard genetic cross

○Masataka TOMITAKA¹, Kenji KIDA², Hisataka TAGUCHI¹, Takashi AKAMATSU¹

(¹Dept. Microb. Technol., Fac. Biotechnol., Life Sci., Sojo Univ.,²Grad. Sch. Sci. Tech., Kumamoto Univ.)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, ethanol fermentation, isogenic strain

2P-2044 *Peniophora* 属担子菌によるエタノール生産

○米田 元輝, 秋沢 佑弥, 岡本 賢治, 築瀬 英司
(鳥取大・工・生応工)

【目的】自然界で森の分解者として木質資源のリサイクルに貢献している担子菌は、多様な物質変換能を持つことからバイオリファイナーへの応用が期待できると考えている。これまでに、我々は白色腐朽菌*Peniophora cinerea*に良好なエタノール生産性を見出し、本研究では*Peniophora*属担子菌における発酵能について知見を得ることを目的とした。

【方法と結果】*Peniophora*属担子菌類をグルコース、マンノース、セロビオースおよびマルトースを含む各培地で培養したところ、*P. cinerea*と系統的に近縁な種において、ほぼ共通した発酵能の存在を認めた。アラビノースやキシロースに対する性質も同様であった。現在、バイオマスに対する発酵試験を行うとともに、リグノセルロース分解酵素との関係についても検討を進めている。

1) Okamoto *et al.*, *Biotechnol. Lett.*, **32**, 909-913 (2010)

Production of ethanol by the genus *Peniophora*

○Motoki YONEDA, Yuya Akizawa, Kenji OKAMOTO, Hideshi YANASE

(Dept. Biotech., Tottori Univ.)

Key words basidiomycete, ethanol production, biomass