

論文の要約

氏名：小林 洋介

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：浸透圧耐性酵母 *Moniliella megachiliensis* におけるストレス応答とポリオール生産

エリスリトール (1,2,3,4-butanetetrol) は炭素数 4 個からなる 4 炭糖の糖アルコールであり、微量ではあるが醤油、清酒、チーズなどの発酵食品、食用きのこ類および果実類に含まれており、古くからごく自然な形で日常的に食されてきた物質である。卓上甘味料や飲料、菓子類、錠剤など広く食用に利用されており、食品以外にも口腔洗浄剤、化粧品の保湿剤など様々な用途がある。さらに、近年、バイオプラスチックなど化成品の原料としての利用も注目されている。エリスリトールは担子菌系酵母である *Moniliella megachiliensis* などを用いたグルコースからの発酵生産によって生産されている。*M. megachiliensis* を用いた発酵法によるエリスリトールの工業的生産は我が国で世界に先駆けて確立されたオリジナル技術である。*M. megachiliensis* は浸透圧ストレスに応答してエリスリトールを生成していると考えられており、このような細胞内に蓄積する低分子有機化合物を適合溶質(compatible solute)と呼ぶ。しかし、適合溶質生成機構の詳細が明らかになっているのはごく限られたモデル生物のみであり、多くの産業上有用な生物では解明されていない。

M. megachiliensis におけるエリスリトールの生成経路は解糖系とペントースリン酸回路の共役によって生成されたエリスロース-4-リン酸が、次いで Erythrose-4-phosphate phosphatase の作用で無機リン酸が脱離してエリスロースとなり、さらに Erythrose reductase (ER) の作用によりエリスリトールが生成される。浸透圧などのストレスが負荷されると、これらの酵素遺伝子が反応してストレス耐性機構が活性化すると考えられている。これまで ER のタンパク質レベルでの解析は進められているが、遺伝子レベルでの機能解析は行われていない。また、*M. megachiliensis* は他菌株では生成が極稀なエリスリトールをグリセロールよりもはるかに多量に生成することから、モデル生物よりも複雑な糖代謝経路を有していることが予想される。

本研究では、エリスリトール生産菌である *M. megachiliensis* において ER 遺伝子を含む周辺塩基配列を取得するとともに、その発現動態や機能解析を行うこと、ストレス応答時における糖代謝機構を明らかにすることで、ストレス応答に伴うエリスリトール生成の機能解明、および発酵によるエリスリトール生産の最適化に向けた基礎的知見を提案することとした。

M. megachiliensis のエリスリトール生成には ER 遺伝子、特に ER3 遺伝子が大きく関与していることを証明した。また、*M. megachiliensis* は適合溶質としてグリセロールとエリスリトールを生成し、貯蔵糖としてトレハロースとグリコーゲンを生成することを明らかにした。そして、浸透圧ストレスに対して、トレハロースを分解して、初期応答ではグリセロール、培養後期に至るにつれてエリスリトールを適合溶質として生成することで生存を図っていると考えられた。酸化ストレスに対しても浸透圧ストレスと同様にトレハロースを分解してエネルギーを得るが、グリセロールの生成は微量でありエリスリトールを大量に生成することによって適応を図っていることが示唆された。また、代謝工学的な知見のみならず、安価な廃棄資源である未精製のグリセロールからバイオ樹脂などの化学用途を目指したエリスリトールの発酵生産技術の可能性を示した。

今後、エリスリトールの高生産のためには、更なる代謝経路の解明と遺伝子導入系の確立、廃グリセロールを用いた時の培養条件の検討などが必要である。