

論文の要約

氏名：岩 田 悠 志

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：*Moniliella megachiliensis* におけるエリスリトール生成と環境ストレス
応答機構

エリスリトールは、4炭糖の糖アルコールで、ショ糖の約75%の爽快な甘味をもち、果実類、発酵食品、キノコ類などに含まれている。また、栄養表示基準によるエネルギー値はゼロであり、非う蝕性や抗酸化性などの優れた機能を有している。現在、糖アルコールの中で唯一発酵法により工業生産されており、食品、化粧品、医薬品などに利用されている。近年では、エリスリトールからバイオプラスチックへの触媒変換技術の開発とともに、化学製品への利用が期待されており、さらなる生産性の向上が望まれている。

Moniliella megachiliensis は、乾燥果実から分離された菌であり、60%グルコース溶液 (3.3 M) のような高浸透圧条件下でも生育する極めて浸透圧耐性の高い担子菌系酵母である。浸透圧下で生成する適合溶質は出芽酵母のようなグリセロールではなく、エリスリトールを蓄積することで細胞内外の浸透圧差を解消している。エリスリトールは、一部の乳酸菌を除いてペントースリン酸経路 (PPP) の中間代謝産物であるエリスロース-4-リン酸 (E4P) を経て、エリスロースレダクターゼ (ER) によって生成することが明らかになっている。現在まで微生物の浸透圧ストレス応答と適合溶質の生成に関する研究は、*Saccharomyces cerevisiae* またはその類縁の酵母で行われており、いずれも解糖系からのグリセロール生成に関するものに限られていた。これまでに *M. megachiliensis* のエリスリトール生成への関与が示唆される酵素群の中で、エリスロースレダクターゼについては、3種のアイソザイム (ER1, ER2, ER3) の存在と、その機能を明らかにしている。その中で ER3 の5'上流域に *S. cerevisiae* のグリセロール生成の鍵酵素である *GPD1* (*ScGPD1*; Glycerol-3-phosphate dehydrogenase1) と同様のストレス応答に関与する STRE (stress response element) 配列が存在し、この isozyme がエリスリトール生成に深く関わっていることを報告した。さらに、浸透圧ストレスシグナル伝達を担う MAPK Hog1 がエリスリトール生成系の上流に存在し、浸透圧に応答して発現が上昇することを確認した。このことからエリスリ

トールは、*S. cerevisiae* におけるグリセロールと同様、細胞内の浸透圧調節を行うための適合溶質であると考えられる。しかしながら、*M. megachiliensis* のようにエリスリトールを適合溶質とする真核微生物についての浸透圧ストレスと糖代謝に関する報告は、ほとんど見当たらない。そこで、PPP における主要な酵素で、エリスリトールの前駆体となるエリスロース-4-リン酸を生成するための鍵酵素 transketolase (TKL) と transaldolase (TAL) に注目した。本研究では、エリスリトール生産性の向上を目途に、浸透圧ストレスを初めとする様々な環境ストレスに対する適応機構解明の一環として、TKL および TAL 遺伝子の取得と発現動態の解析、さらに、本菌の適合溶質生成と環境適応との関連性について考察した。

M. megachiliensis の TKL, TAL には、それぞれに 2 種の isogene が存在し、配列の違いはあるものの、機能領域には高い保存性が見られた。ストレスの種類(浸透圧、酸化)により、これらの isogene を使い分けながら、エリスリトール生成を調節していることが判明した。浸透圧ストレスにおいては、浸透圧剤の種類(Sorbitol, NaCl, Glucose)により細胞内の代謝に関わる遺伝子を制御し、適合溶質を選択的に生成することで、それら環境下に適応していると考えられた。化学用途に向けたエリスリトールの低コスト発酵生産において、当初不適と思われた牛脂由来廃グリセリンは、pH 調整するのみで、エリスリトール発酵生産への利用が可能であることが示された。さらに、グリセロールによる浸透圧ストレス下で、グルコースによる浸透圧ストレスとは異なる代謝制御が行われていることが示唆された。

今後、エリスリトール生成は浸透圧ストレスのみならず、酸化的要因も深く関わることから、レドックス制御との関連性についても、解析を進める。また、グリセロールからのエリスリトールへの代謝は、糖新生の関与が推定されるために新たな代謝経路であるとともに、発酵生産的な観点からも興味を持たれるところであり、検討の予定である。