

酸化還元バランスの調整によるキシロースからのエタノール醗酵収率の改善

Improvement of ethanol yield from xylose by adjustment of redox balance of cofactors

○畠中治代 前田智秀 安江友里 西山和恵 (サントリービジネスエキスパート (株) 微生物科学研)

○Haruyo Hatanaka, Tomohide Maeda, Yuri Yasue, Kazue Nishiyama (SUNTORY BUSINESS EXPERT LIMITED, Institute for Microbial Science)

【目的】 植物バイオマスに含まれる、ヘミセルロース由来のキシロースから、*S. cerevisiae*でエタノールの生成を行う際の問題の一つに、その醗酵収率の低さがある。そこで、これを改善するため、酵母の育種を行った。

【方法】 キシロース醗酵能を付与するために酵母に導入している、*Pichia stipitis*のキシロース還元酵素はNADPHを、キシリトール脱水素酵素は、NADを基質として必要とする。補酵素の酸化還元バランスの観点から眺めると、グルコースからエタノールを醗酵する際、バランスが崩れることはないが、キシロースの場合はNADPHおよびNADが減少する方向へ進んでいく。そこで、NAD濃度を上昇させることを目的として、細胞質に局在するNAD kinaseをコードする*UTR1*あるいは*YEF1*の破壊株を育種した。また、NADPH濃度を上昇させるために、ミトコンドリアのNAD kinase をコードする*POS5*を細胞質にて高発現する育種を試みた。さらに、キシロース醗酵の主な副産物であるキシリトールを低減することを目的として、グリセロールチャネルとして知られる*FPS1*の破壊株を育種し、それら育種株でのキシロース醗酵における効果を検討した。

【結果】 育種した株を用いて、5%キシロースを含む培地で醗酵試験を行った。*UTR1* 破壊株、*YEF1* 破壊株では、主な副産物であるキシリトール、グリセロール、酢酸の生成量が減少して、エタノール収率が向上した。キシロースの資化速度もほぼ親株と同じであり、予想通りの効果を得る事が出来た。一方、細胞質にて*POS5*を高発現した株では、キシリトールが親株の2倍程度に増加し、エタノール収率は激減した。NADPH濃度を上昇させることで、キシロース還元酵素による反応速度が上昇するものの、次のキシリトール脱水素酵素による反応が律速となり、キシリトールが蓄積することが原因と思われた。蓄積したキシリトールは、細胞内浸透圧を高めてしまうため、速やかに排出されるものと思われる。Fps1pはグリセロールチャネルとして知られており、細胞内の浸透圧調整のためにその発現、活性調節がなされている膜タンパクである。我々はこのFps1pがキシリトールの排出も担っているものと考えて、*FPS1*の破壊株を作成した。また、細胞内外の浸透圧にかかわらず、その活性が低下しない、N末を欠失させた変異型Fps1pも作成し、その高発現株も作成した。変異型*FPS1*発現株では、キシリトールの生成量が上昇したが、*FPS1*破壊株では、逆にキシリトールの生成量の低下が見られ、エタノール収率は上昇した。これらの事から*FPS1*はキシリトールを排出するチャネルの1つであることが確認された。興味深いことに*FPS1*破壊株では、グリセロール生成量は逆に増加した。これは、*FPS1*の破壊により、キシリトールより下流の代謝が促進したことと、他のグリセロールチャネル発現量が上昇したせいかもしれない。