

イソブタノールによる酵母の生育阻害メカニズムを解明 ～次世代バイオ燃料の高効率生産につながる新たな知見～

1. 発表者：

黒田 浩一（京都工芸繊維大学 分子化学系 教授）

菅瀬 謙治（京都大学 大学院農学研究科 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ イソブタノール^{注1)}による酵母生育阻害の分子標的がロイシル tRNA 合成酵素（LeuRS）^{注2)}であることを世界で初めて発見
- ◆ イソブタノールがロイシン^{注3)}との競合により LeuRS 活性を阻害し、細胞の増殖を抑制する仕組みを解明
- ◆ イソブタノール高耐性酵母の開発に向けた新たな分子育種戦略を提示し、次世代バイオ燃料の高効率生産に貢献

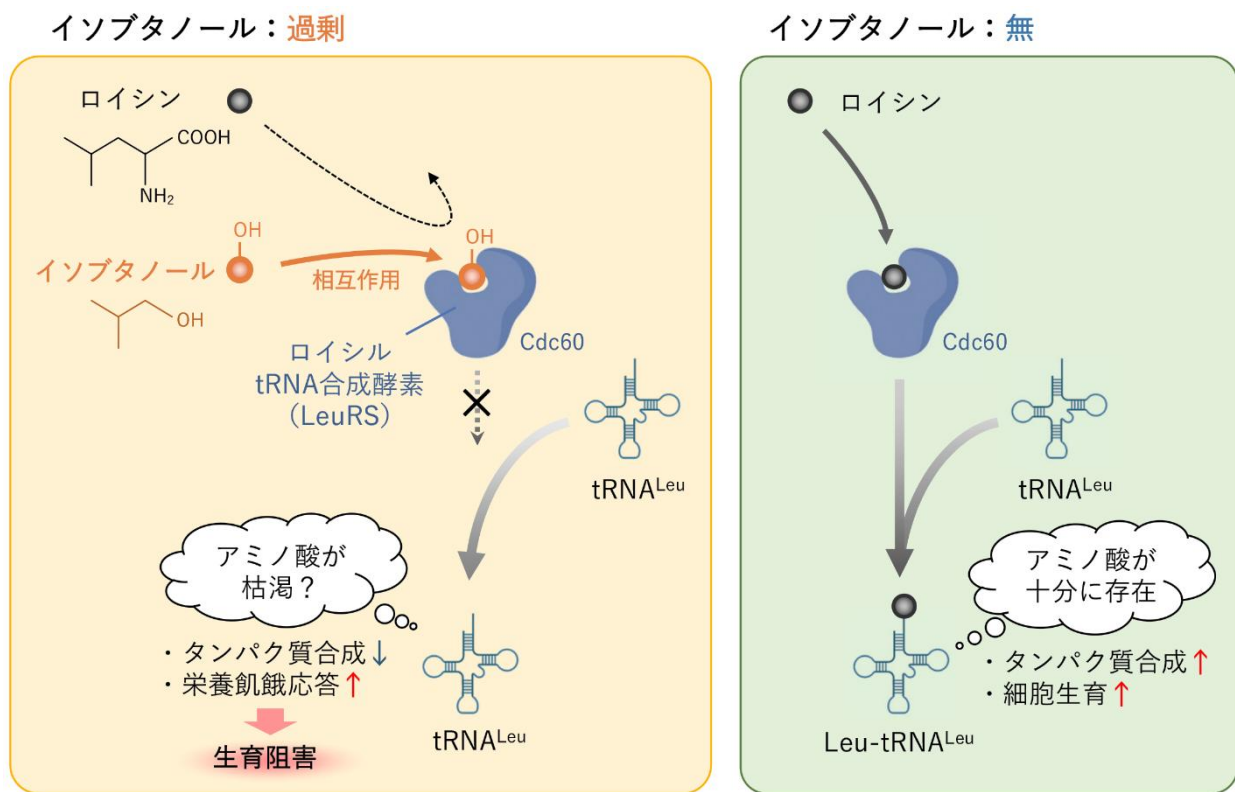
3. 発表概要：

地球温暖化対策や化石資源依存からの脱却に向けて、再生可能資源を原料として生産されるバイオ燃料への期待が高まっています。なかでもイソブタノールは、高いエネルギー密度と既存の燃料インフラとの高い親和性を有することから、次世代バイオ燃料として注目されています。

しかし、生産されるイソブタノールは宿主である出芽酵母自身の生育を強く阻害するため、生産量向上の大きな障害となっています。これまでイソブタノールによる生育阻害は、細胞膜の流動性低下やタンパク質の変性などによる非特異的な細胞機能障害として説明されてきましたが、実際にどの分子が直接の標的となって生育阻害を引き起こしているのかは、これまで分かっていませんでした。

本研究では、京都工芸繊維大学 分子化学系の黒田浩一教授らがこれまでに発見していた「イソブタノールによる栄養飢餓応答の誘導」という現象に加え、同教授が実験を進める過程で得た気づきをもとに、「**ロイシン認識機構がイソブタノールによる生育阻害の鍵を握る**」という独自の仮説を構築しました。その仮説を検証した結果、イソブタノールが細胞質型ロイシル tRNA 合成酵素（LeuRS）に直接結合し、ロイシンとの結合を競合的に阻害することを世界で初めて明らかにしました。

本研究成果は、これまで分かっていなかったイソブタノールによる生育阻害の分子標的を世界で初めて**特定**し、その生育阻害機構の理解を大きく前進させるものです。今回得られた知見は、イソブタノール耐性酵母の開発に向けた新たな分子育種戦略を提供するものであり、将来的なイソブタノールの高効率生産や持続可能なバイオ燃料生産技術の実現につながることで期待されます。本研究成果は、2026年6月4日付で国際学術誌『Journal of Biological Chemistry』にオンライン掲載されました。



4. 発表内容：

研究の背景

カーボンニュートラル社会の実現に向けて、再生可能資源から生産されるバイオ燃料の開発が世界的に進められています。イソブタノールは従来のバイオエタノールよりもエネルギー密度が高く、吸湿性や腐食性が低いことから、次世代バイオ燃料として期待されています。

出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) は遺伝子改変が容易であり、大規模発酵技術も確立されていることから、イソブタノール生産宿主として有望視されています。また、微生物の中でも高いエタノール耐性を有し、エタノール発酵に広く利用されています。しかし、そのような酵母であってもイソブタノールに対しては強い生育阻害を受けるため、イソブタノール生産量向上の大きな制約となっています。

これまでイソブタノールによる生育阻害は、細胞膜の流動性低下やタンパク質の変性などによる非特異的な細胞機能障害として説明されることが一般的でした。そのため、特定のタンパク質が主要な標的として作用しているという考え方はほとんど提案されていませんでした。

一方、発表者はこれまでに、イソブタノールが栄養豊富な条件下にもかかわらず酵母に窒素飢餓応答を誘導することを発見していました。この現象は従来の毒性モデルでは十分に説明できず、「イソブタノールが細胞内の特定の分子を認識して作用している可能性」を示唆していました。

そこで、分岐鎖構造を持つイソブタノールと分岐鎖アミノ酸ロイシンの構造的類似性に着目し、「ロイシン認識機構がイソブタノールによる生育阻害の鍵を握っているのではないか」という独自の仮説を構築しました。この着想は既存研究から直接導かれたものではなく、発表者が研究を進める過程で得た知見と気づきを統合することで初めて到達したものでした。

研究内容

発表者はまず、従来ほとんど検討されていなかった「ロイシン認識機構とイソブタノールによる生育阻害の関係」に着目しました。その結果、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) ^{注4)}の一種であるロイシンを過剰添加すると、イソブタノールによる酵母の生育阻害が大きく緩和されることを発見しました。この結果は、イソブタノールによる生育阻害にロイシン認識機構が関与している可能性を強く支持するものでした。

この仮説を検証するため、発表者はロイシン認識に重要な役割を果たすロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS) に着目しました。そこで、大腸菌を用いて組換えタンパク質を生産し、その酵素活性を確認した上で、STD-NMR (飽和移動差核磁気共鳴法) ^{注5)}による解析を行いました。その結果、イソブタノールが細胞質型 LeuRS (Cdc60p) と直接相互作用する一方で、ミトコンドリア型 LeuRS (Nam2p) とはほとんど相互作用しないことを明らかにしました。さらに、ロイシンとイソブタノールを同時に添加した競合実験では、両者の結合シグナルが互いに低下し、同じ結合部位を奪い合う競合的阻害が起こっていることが示されました。また、AlphaFold ^{注6)}による立体構造予測と分子ドッキング解析を組み合わせた構造解析から、イソブタノールが LeuRS のロイシン結合ポケットに結合し、ロイシンの認識を阻害することが予測されました。

以上の結果から、イソブタノールは LeuRS による Leu-tRNA 合成を阻害し、その結果としてタンパク質合成を低下させるとともに、栄養飢餓応答^{注7)}を異常に誘導することで、酵母の生育を阻害することが明らかになりました。これにより、イソブタノールが**特定のタンパク質を直接標的として作用することを初めて示し**、酵母におけるイソブタノールによる生育阻害機構の理解が大きく前進しました。

今後の展開

本研究により、これまで不明であったイソブタノールによる酵母の生育阻害機構の一端が明らかになりました。今後は、LeuRS のイソブタノール結合部位の改変や、LeuRS を起点とした栄養応答経路の制御などの新たな戦略に基づいて、イソブタノール耐性酵母の分子育種を進める予定です。これにより、イソブタノールの高効率生産を可能とする次世代バイオものづくり宿主の開発が期待されます。

また、本研究成果はイソブタノールだけでなく、各種バイオ燃料やバイオ由来化学品の生産過程で生じる化合物毒性の分子機構の理解にもつながるものであり、持続可能なバイオものづくり技術の発展への貢献が見込まれます。

さらに、本研究は「生育阻害をもたらす低分子化合物がどのような分子を標的として認識・作用するのか」という生命科学における基本的な問いに対して新たな知見を提供するものであり、今後の分子標的探索研究への波及効果も期待されます。

※本研究は、日本学術振興会(JSPS)科学研究費補助金(基盤研究(B): JP22H02240、SPRING: JPMJSP2110) および科学技術振興機構(JST)革新的 GX 技術創出事業(GteX): JPMJGX23B4 の支援を受けて行われました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Journal of Biological Chemistry (Available online 4 June 2026)

論文タイトル：Leucyl-tRNA Synthetase as a Molecular Target of Isobutanol-Mediated Growth Inhibition in *Saccharomyces cerevisiae*

著者：Mano Hasegawa, Nodoka Oshimura, Kaho Hitomi, Ayako Furukawa, Kenji Sugase, and Kouichi Kuroda

DOI 番号：10.1016/j.jbc.2026.113228

アブストラクト URL：<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925826021009>

6. 用語解説：

注1) イソブタノール

炭素数 4 のアルコールの一種。ガソリンに近いエネルギー密度を有し、既存の燃料インフラを活用できることから、次世代バイオ燃料として注目されている。

注2) ロイシル tRNA 合成酵素 (LeuRS)

タンパク質合成に必要なアミノ酸であるロイシンを対応する tRNA へ結合させる酵素。正確なタンパク質合成に必須の役割を担う。

注3) ロイシン

生物のタンパク質を構成する必須アミノ酸の一種。分岐鎖アミノ酸 (BCAA) に分類され、タンパク質合成や栄養応答の制御に重要な役割を果たす。

注4) 分岐鎖アミノ酸 (BCAA)

側鎖に分岐構造を持つアミノ酸の総称。ロイシン、イソロイシン、バリンの3種類からなり、タンパク質合成や細胞の栄養応答に関与する。

注5) STD-NMR (飽和移動差核磁気共鳴法)

タンパク質と低分子化合物との相互作用を解析するための NMR 測定法。薬剤や代謝物がタンパク質に結合するかどうかを評価することができる。

注6) AlphaFold

人工知能 (AI) を用いてタンパク質の立体構造を高精度に予測する技術。Google DeepMind 社によって開発された。

注7) 栄養飢餓応答

細胞がアミノ酸や窒素源などの栄養不足を感知した際に活性化される適応応答。タンパク質合成や細胞増殖を抑制し、生存を優先する状態へ移行させる。