

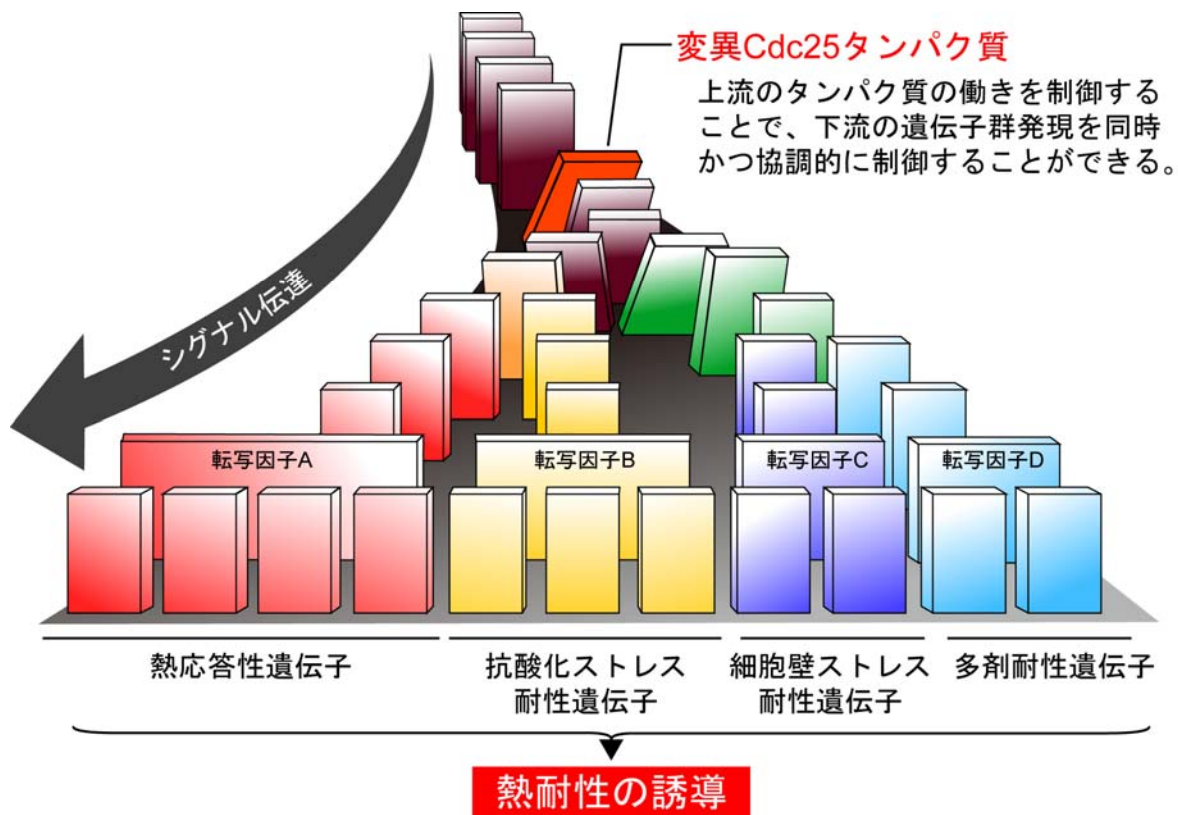
# 酵母の熱適応進化の大規模ゲノム解析によって熱耐性因子の同定に成功

## -バイオエタノール生産性の飛躍的な向上に貢献-

### 概要

本研究は、熱ストレス下で適応進化を行い育種した酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の全ゲノムを次世代シーケンサーにより解析することで、熱耐性を誘導する遺伝子変異を分子レベルで世界で初めて明らかにし、再現実験にも成功しました。

同定した変異を導入した再構成株は高温下において良好な生育を示し、さらに、野生株と比較してグルコースから 2.5 倍、ガラクトースから 5.1 倍のエタノールを生産しました。これらの変異は *CDC25* 遺伝子という、様々なストレス耐性を誘導する経路の上流に位置する因子において同定されました。再構成した株は、真核生物ではこれまで制御が困難であった種々のストレス応答性遺伝子を協調的に発現誘導することで、熱耐性を実現していることがわかりました。熱耐性株を用いた有用物質生産では、発酵系の冷却エネルギーの削減、発酵速度の向上などが見込まれます。本研究で同定された熱耐性関連変異は低コストなバイオエタノール生産など、酵母の産業利用への広汎な応用が期待されます。



### 1. 背景

酵母 *S. cerevisiae* を用いたエタノール生産は、発酵熱による酵母への熱ストレスが問題となるため、

系の冷却が必要となります。そのため、熱耐性酵母を用いたバイオエタノール生産は、冷却エネルギーの削減、発酵の迅速化等の利点があり、低コストなバイオエタノール生産などには不可欠です。そこで、エタノール生産能の高い酵母株から熱耐性株を構築する手法が求められております。しかし、酵母の個々の熱応答性遺伝子を過剰発現しても、効果的に熱耐性は誘導されません。これらの遺伝子群を同時かつ協調的に制御する手法を構築する必要があります。

## 2. 研究手法・成果

本研究では、酵母 *S. cerevisiae* を 32°C、72 時間で繰り返し育種する適応進化を行いました。親株 30°C の生育よりも、32°C においてより良い生育を示した時点で、さらに 2°C 上昇させて 34°C で培養しました。同様の操作を繰り返して、最終的に 38°C まで適応育種を行いました。また、その過程で、各温度に適応した育種途中株を取得しました。育種途中株をすべて解析することで、変異を獲得していく経緯や特定の変異を持つ集団による他集団の淘汰などを遡って解析することが可能になります。

育種親株、熱耐性株、32°C から 38°C に適応した 19 種の育種株の全ゲノム配列を次世代シーケンサーにより解析したところ、様々な育種途中株が独立して *CDC25* 遺伝子上に 4 種の異なる部位に変異を獲得していくことが判明しました。これらの変異を有する株は各温度で優占的に生育していたことから、これらの変異は熱耐性に関与していることが考えられました。

これらの 4 種の変異を育種親株にそれぞれ導入した再構築株はいずれも、親株で生育が阻害される 39°C において良好な生育を示しました。また、親株は 39°C においてエタノール発酵が阻害されるのに対して、再構成した株は 39°C においても 30°C と同様のエタノール発酵能を示し、親株の 2.5 倍以上のエタノールを生産しました。また、再構築株の一つはバイオマスの主要な構成糖であるガラクトースから、39°C において親株の 5.1 倍のエタノールを生産しました。

*CDC25* 遺伝子は様々なストレスに対する耐性を誘導する経路の上流に位置しています。*CDC25* 遺伝子にこれらの変異を導入することで、下流のストレス応答性遺伝子を協調的に制御していることが明らかになりました。従って、本研究で発見した遺伝子変異により、これまで制御が困難であった酵母の熱耐性を効果的に誘導することが再現可能となりました。

## 3. 波及効果

適応進化した株から同定した熱耐性関連変異を導入した再構成株は、高温下においても良好に生育することから、エタノールに限らず様々な有用物質生産への応用が期待できます。また、ガラクトース資化性の向上によって、ガラクトースを出発物質とした物質生産などにも波及効果が見込まれます。

### <論文タイトルと著者>

#### 論文名

Reconstruction of thermotolerant yeast by one-point mutation identified through whole-genome analyses of adaptively-evolved strains

#### 著者

Atsushi Satomura (里村淳一博士課程 2 年、日本学術振興会特別研究員 DC1), Natsuko Miura (三浦

夏子—教務補佐員、現在 NIH 博士研究員), Kouichi Kuroda (黒田浩一—准教授), Mitsuyoshi Ueda (植田充美—教授)

掲載誌

Scientific Reports 6, 23157(2016) ( Publication 3/17; DOI: 10.1038/srep23157: <http://www.nature.com/articles/srep23157>)

<用語解説>

酵母 *Saccharomyces cerevisiae*

パンや種類の生産に用いられる微生物。エタノール生産性は高いが、最適生育温度は 30℃と低い。

ガラクトース

稲わらなどのバイオマスの構成糖の一つ。酵母はガラクトースの資化性は低く、グルコースの約半分の速度で資化される。