

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	Ahangangoda Arachchige Maduka Subodinee
題 目	<p>Studies on yeast strains from Coconut (<i>Cocos nucifera</i>) Toddy in Sri Lanka: the tolerance to high temperature, salt, and inhibitors derived from lignocellulosic hydrolysates and mechanism of thermotolerance (スリランカのココナッツ (<i>Cocos nucifera</i>) トッディーの酵母に関する研究: 高温、高塩濃度、及びリグノセルロース加水分解物由来の発酵阻害物質に対する耐性と耐熱性の機構について)</p>
<p>最初に、スリランカのココナッツトッディーから酵母 27 菌株を単離した。3 つの属、<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (18 株)、<i>Pichia manshurica</i> (8 株)、<i>Saccharomycodes ludwigi</i> (1 株) が 26S rDNA の D1/D2 領域の塩基配列を基に同定された。<i>S. cerevisiae</i> の単離されたすべての菌株が、10% NaCl (w/v) 存在下の酵母エキス-ペプトン-デキストロース (YPD) 培地で生育することができ、SLY-10 株は 13% NaCl (w/v) 存在下でも生育した。すべての菌株は 40°C でも生育し、<i>S. cerevisiae</i> の単離された 18 株すべてが、42°C でも生育できた。さらに 7.5% NaCl (w/v) 存在下 40°C でも、対照株よりも良い生育を示した。<i>S. cerevisiae</i> 単離株は 40°C でも 100g・L⁻¹ グルコースを含む培地で、対照株よりも高い濃度のアルコールを生産した。5 菌株 (SLY-3, SLY-4, SLY-8, SLY-9, SLY-10) は 45°C でも十分量のアルコールを生産し、45°C ではグルコース濃度を 160 g・L⁻¹ にすると 100 g・L⁻¹ よりもアルコール生産量が増加した。</p> <p>次に、<i>S. cerevisiae</i> の 18 単離株について、最も強力なアルコール発酵阻害物質として知られるバニリン存在下での好氣的な生育について調べ、すべての株が 18 mM まで生育することができることが明らかとなった。上で述べた 5 株は 24 mM バニリン存在下でも、72 時間で 11.4-33.1 g・L⁻¹ のアルコールを生産した。SLY-10 株は 21 mM バニリン存在下でも生育し、24 mM バニリン存在下で最も高いアルコール生産量を示した。この 5 株はバニリンをバニリルアルコールに変換した。他の強力な阻害物質である 4-ヒドロキシ安息香酸 (PHBA, 24 mM)、フルフラール (30 mM)、5-メトキシメチルフルフラール (5-MHF, 36 mM) や酢酸 (75 mM) に対して耐性を示した。阻害物質の混合物 (0.81 mM バニリン、9 mM フルフラール、9 mM 5-HMF、22.5 mM 酢酸、22.5 mM ギ酸) 存在下でも、十分な生育とアルコール生産量 (11.4-33.1 g・L⁻¹) を示した。SLY-10 株がバニリンに対して最も高い耐性を示したが、阻害物質混合物に対しては SLY-10 株よりも他の 4 株が同程度の高い耐性を示した。</p> <p>最後に、5 株のエルゴステロール合成に必須な遺伝子 <i>ERG3</i> 配列と 30°C、37°C、40°C で生育した細胞中のエルゴステロール含量について調べた。すべての菌株で、C279T (フェニルアラニン残基のアミノ酸置換を伴わない) と T461C (バリンからアラニンへ置換) の一塩基置換が見られたが、<i>ERG3</i> 遺伝子は健全に働いていることが示唆された。5 つの菌株のエルゴステロール含量は対照株と同等であった。生育温度が高くなると、エルゴステロール含量は高くなる傾向があった。他の未同定のステロールピークが検出されたが、それらと耐熱性の関係について考察することは難しかった。それ故 5 株の耐熱性の機構は、<i>ERG3</i> 遺伝子やエルゴステロール含量が関与する機構とは異なると考えられ、さらなる解析が必要である。</p>	