***Saccharomyces cerevisiae*のエタノール生産能向上に関する文献調査（１）**

**（遺伝子改変によらない方法）**

ENEOS開発酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）のエタノール生産能をさらに向上させるために、グルコースからのエタノール収量をより高める必要がある。このためにはエタノール生産にかかわる遺伝子（群）を増強することが一般的であるが、遺伝子操作を使わない方法も報告されている。

1. エタノール耐性株を得る方法

　エタノール耐性を獲得した酵母はエタノール生産能も高まっているという報告がみられる。耐性株を得る方法としてUV変異、薬剤処理、凍結融解、レーザー照射などがある。これらの操作は比較的容易であり、処理を組み合わせることでより効果的に耐性株を得ることができる（文献1～6, 9, 47, 60, 61）。連続培養による変異株取得もおこなわれている（文献58）。

1. 呼吸欠損株を得る方法

　呼吸欠損株（cytochrome c oxidase欠損株）は菌体の増殖が抑えられると同時にエタノール生産性が高まるという報告がみられる.（文献44, 45）変異処理により呼吸欠損株は容易に得ることができる。

＊　当方でもcox5遺伝子破壊によりcytochrome c oxidaseを欠損させた株を作製しており、エタノール収率向上を認めている。

1. 継代培養によって糖消費能が高い株を得る方法

　変異処理をおこなわなくとも、選択圧をかけた継代培養を繰り返すことによって糖消費能,エタノール生産性の高い株を得る方法が報告されている。この方法はAdaptive Laboratory Evolution (ALE)として知られている。変異処理と組み合わせる方法もある。（文献7, 8, 10～12）

1. 代謝阻害剤耐性株を得る方法

　ピルビン酸まわりの経路をエタノール側に引き寄せることが、エタノール収量を高めるために重要であると考えられる。そのためにpyruvate decarboxylase（ピルビン酸脱炭酸酵素）に作用する薬剤の耐性株を得る方法が報告されている。（文献13）

この手法に関しては公開特許がある。（特許1 US10,577,580 B2）

1. 物理的手法による方法

　酵母菌体に物理的な操作をおこないエタノール生産をおこなう方法が報告されている。主なものでは静電気を菌体に与える方法（文献14）、菌体にプラズマ処理をおこなう方法（文献15）がある。

1. 亜鉛添加による方法

　硫酸亜鉛の添加により発酵時間が短くなるという報告がみられた（文献49）。最終的なエタノール生産量もわずかながら向上していた。

**調査結果から変異処理あるいはエタノール濃度を上げていく継代培養（あるいはこの組み合わせ）でエタノール耐性株を得る方法、または変異処理により、呼吸欠損株を得る方法が現在のところもっともやりやすい方法であると考えられる。エタノール耐性株は他のストレスにも強くなっている可能性が高く、得られた株のうちいくつかは現在の性質を維持したままエタノール変換能が高まっていることが期待できる。**

**また６．に記載したように亜鉛の添加が発酵速度の向上に効果があるとする報告がある。菌株や培養条件によって効果に違いがみられる可能性はあるが、試みる価値はありそうである。**