

Studies on the efficient butanol production from mixed sugars and the elucidation of bypass mechanism of carbon catabolite repression

野口, 拓也

<https://hdl.handle.net/2324/1654953>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	野口 拓也		
論文名	Studies on the efficient butanol production from mixed sugars and the elucidation of bypass mechanism of carbon catabolite repression (混合糖を用いた効率的なブタノール生産およびカーボンカタボライト抑制の回避機構解明に関する研究)		
論文調査委員	主査	九州大学	教授 園元 謙二
	副査	九州大学	教授 酒井 謙二
	副査	九州大学	准教授 中山 二郎

論文審査の結果の要旨

バイオ燃料として期待されるブタノールを生産するグラム陽性の *Clostridium* 属細菌は、リグノセルロース系バイオマスを構成する種々の糖を資化することが可能である。多くの微生物は炭素源として混合糖を使用すると、グルコースを優先的に消費し、他の糖の消費を遅延するカーボンカタボライト抑制 (CCR) を示す。本研究は、*Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 を用いて、CCR を回避した混合糖からのブタノール発酵生産系の構築、および転写解析による CCR 回避機構の解明について検討したものである。

グルコースとキシロースから成る混合糖 (GX 混合糖) を用いた場合、CCR が生じる。そこで、グルコースの代わりに二糖であるセロビオースとキシロースから成る混合糖 (CX 混合糖) を用いた回分培養を検討している。その結果、セロビオースとキシロースが同時に消費されると共に、効率よくブタノールが生産され、CCR の回避に成功している。また、CX 混合糖を培養中に添加する流加培養にも成功している。一方、連続発酵で CCR が起こると、ブタノール生産性が低下するだけでなく、消費されない糖の廃棄率が高くなる。そこで、CX 混合糖を用いて高密度菌体による連続発酵系の構築を検討している。その結果、約 0.7 h^{-1} の高希釈率でも混合糖の高い利用率とブタノール高生産性を達成している。

グラム陽性細菌の CCR では、Phosphotransferase system (PTS) がグルコース輸送時にグルコースをリン酸化し、histidine-containing protein kinase (HPrK) による HPr のリン酸化を誘起し、リン酸化 HPr が catabolite control protein A (CcpA) と複合体を形成して、キシロース代謝に関わる酵素遺伝子の転写調節を行うことが報告されている。本研究では、種々の炭素源で培養し、代謝関連遺伝子の発現量を定量 RT-PCR で比較して、CCR 回避の要因およびその分子機構の解明を試みている。その結果、CX 混合糖で培養した菌体では、セロビオース単独培養時と比較して、非 PTS 系の輸送体であるセロビオースパーミアーズ遺伝子 *celB3* と菌体内に局在する β -グルコシダーゼ遺伝子 *bgI45* の発現量が有意に増加することを見出している。また、非 CCR 条件 (CX 混合糖) 下では CCR 条件 (GX 混合糖) に比べて *hprK* の発現量が有意に低いことを示している。一方、推定 CcpA 遺伝子 *regA1* の発現量に差は見られていない。したがって、CX 混合糖を用いた場合に観察される CCR 回避機構では、非 PTS 系輸送体であるパーミアーズと菌体内 β -グルコシダーゼを介したバイパス経路、そして *hprK* の発現抑制が重要な要因であることを示唆している。

以上要するに、本研究は、混合糖を用いた回分培養、流加培養、そして連続培養で CCR を回避した効率的なブタノール生産を実現し、CCR の回避のために重要な要因を見出したものであり、微生物

物工学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。