九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Studies on highly efficient butanol production from exogenous acetate by Clostridium saccharoperbutylacetonicum N1-4 (ATCC 13564)

高, 明

https://hdl.handle.net/2324/1500788

出版情報：九州大学, 2014, 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）

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名	高 明
論　文　名	Studies on highly efficient butanol production from exogenous acetate by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564) （酢酸のサルベージ合成による効率的ブタノール生産に関する研究）
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

クロストリジウム属細菌のアセトン・ブタノール・エタノール（ABE）発酵で生産されるブタノールは最も期待されるバイオ燃料の一つである。ABE 発酵の特徴として、酸生成期（対数増殖期）に生成した酢酸などの有機酸が再同化されて、ソルベント生成期（定常期）にブタノールなどのソルベントが生成することが挙げられる。一方、酢酸はリグノセルロースの主要成分であるヘミセルロースの酸加水分解時に副成するなど容易に入手できる。本研究は、ABE 発酵の再同化代謝経路を利用した酢酸からブタノールの生産（サルベージ合成）を明らかにすると共に、効率的なブタノール生産システムについて検討したものである。

ABE 発酵菌として *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 を用いて、酢酸からの ABE 生産特性を検討している。グルコースを co-substrate として 4 g/L の酢酸を培地に添加した場合、添加しない場合に比べてブタノール生産量が 48.3%、アセトン生産量が 90.5%増加し、酢酸の添加が代謝流束を変化させることを示唆している。また、$^{13}C_2$-酢酸を用いて ABE 発酵を行い、代謝産物を GC-MS で解析した結果、^{13}C を含むブタノールとアセトンを確認し、ほぼすべての $^{13}C_2$-酢酸がこれらのソルベントへ変換されることを明らかにしている。さらに、酢酸添加が酸生成期でも、グルコースからのブタノールおよびアセトンへの変換効率をそれぞれ 0.196％から 19.5%、0%から 7.64%へ増加させる興味深い結果を示している。一方、酵素活性レベルでの酢酸添加効果も検討している。酸生成期およびソルベント生成期において、酢酸の添加が酢酸の取り込みに関わる酵素（酢酸キナーゼ、リン酸アセチルトランスフェラーゼ、CoA トランスフェラーゼ）およびソルベント生成経路に関わる酵素（アセト酢酸デカルボキシラーゼ、ブタノールデヒドロゲナーゼ）の活性を高めることを示している。このように、酢酸添加が増殖初期においてもソルベント生産を誘導し、酢酸およびグルコースからブタノールおよびアセトンへの代謝流束を増加させることを初めて定量的に明らかにしている。

次に、酢酸によるブタノール生産の効率的な発酵システムについて検討している。酢酸を異なる培養期（酸生成期、ソルベント生成初期、ソルベント生成後期）で添加しても、酢酸非添加と比較して、ブタノール生産速度が向上することを見出している。また、高濃度ブタノール生産を達成するため、酢酸とグルコースから成る混合基質を添加する流加培養を行った結果、回分培養と比較して、ブタノール濃度が向上することを示している。さらに、酢酸とグルコースを用いた pH-stat 流加培養を行い、これまでで最大となるブタノール生産濃度（15.1 g/L）、ブタノール生産速度（1.04 g/L/h）およびブタノール収率（0.367 C-mol/C-mol）を達成している。

以上要するに、本研究は、ABE 発酵での酢酸からのブタノール生産について、サルベージ合成反

応の化学量論や効率的なブタノール生産システムの構築に関する新規な知見を見出したものであり、微生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。