

炭素収率の高い化学品生産のための、光独立栄養性シアノバクテリアの包括的な代謝改変

菅野, 雅皓

<https://doi.org/10.15017/1866370>

出版情報：九州大学, 2017, 博士（システム生命科学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：



氏名：菅野 雅皓

論文名：

Global metabolic rewiring of an obligate photoautotrophic cyanobacterium for carbon-efficient chemical production

(炭素収率の高い化学品生産のための、光独立栄養性シアノバクテリアの包括的な代謝
改変)

区分：乙

論文内容の要旨

今日、大部分の化学品は石化資源より製造されているが、環境、政治、地政学的リスク軽減のために、再生可能資源への転換・多様化が強く望まれている。特に、石化資源への依存が強い我が国の化学産業は、早急な対策が必要である。微生物による燃料・化学品生産技術は、バイオマス糖などの原料から目的生産物のワンポット合成が可能であることから、石化資源脱却のための解決策として長らく期待されてきた。事実、糖を原料として、化学合成が困難な化合物や高付加価値品を中心に工業化が実現したが、原油価格が下落した近年の状況では、経済合理性を見出しにくくなっている。その理由の一つとして、原料糖に由来するコストが製造コストの大部分を占めることが挙げられる。そのため、より安価で入手の容易な原料への転換が試みられてきた。

特に、光合成独立栄養細菌であるシアノバクテリアを用いた物質生産は、安価な CO₂ を再生可能原料とできる次世代技術として大きく注目されている。CO₂ の市場価格は現在およそ 3 円/kg と、グルコースの約 10 分の 1 であり、製造コストの大幅な削減が期待できる。それだけでなく、遺伝子組み換えの容易なシアノバクテリアは物質生産宿主として好まれ、この 10 年ほどで数多くの物質が異種生産されてきた。

しかし、その生産濃度の多くは mg/L オーダーであり、従来の発酵生産のそれに遠く及ばない。なぜなら、本質的に相反する、光照射効率の最大化と細胞密度の最大化を同時に満たさなければならない難しさがあるからである。CO₂ の固定速度を保つためには細胞への効率的な光照射が必要だが、細胞の高密度化とともにこの効率は激減する。また、太陽光をエネルギー源として使用する場合には、夜間の生産はできない。

そこで、本論文では、グルコースやグリセロールなどを補助炭素源とした光従属栄養的な化成品生産技術を構築し、2,3-ブタンジオール (23BD) を生産ターゲットの一例としてその有効性を検証した (Chapter 2~4)。これら炭素源は光非依存的に代謝され、増殖や生産に必要な代謝物を合成できることから、夜間や細胞高密度など光照射が限定的な条件においても、物質生産を継続／向上することができると期待した。それだけでなく、照射面積が膨大になりがちであった従来の光合成プロセスを、制御が容易でコンパクトにできると期待した。

そこでまず、Chapter 2 では、グルコースおよびキシロースを補助炭素源として添加することで、光照射が限定的な夜間、高密度条件で生産を継続／向上できることを示した。大腸菌由来の資化遺伝子および各種糖のトランスポーター遺伝子を *Synechoccus* へ導入することで糖の資化性を付与し、さらに 23BD 生産遺伝子を導入した。その結果、日光を模倣した明暗条件では、明暗期い

ずれにおいても同等の細胞増殖、物質生産を実現できた。それだけでなく、144時間の連続暗条件でさえ継続した増殖、生産がみられ、補助糖によりシアノバクテリアの炭素代謝を劇的に改変できたことは興味深い。さらに、実生産を模倣した高細胞密度条件では、 $OD_{730} = 25$ (~5 gDCW/L)、3 g/L もの 23BD が生産された。特に、高密度条件では、生産された 23BD 炭素のうち 33% は CO_2 由来であることが ^{13}C 放射性標識実験から明らかとなり、補助糖を使ったとしても CO_2 固定は十分に維持されることを示した。

次に、Chapter 3 では、より安価で入手しやすい炭素源であるグリセロールにも同方法論が適用できることを実証した。大腸菌由来の好氣的グリセロール代謝遺伝子の導入により、光独立栄養条件時に比べ 23BD 生産は 290% 向上し、48 時間で 761 mg/L 生産した。明暗光条件においても、585 mg/L の 23BD を生産した。しかしながら、グリセロール代謝に伴う毒性により細胞増殖・物質生産が早急に停止することが大きな課題であった。代謝中間体であるメチルグリオキサールの蓄積による毒性が原因の一つであると考え、代謝経路の下流遺伝子を発現したところ、毒性を軽減できた。

最後に、Chapter 4 では、より実生産に適した菌株構築のため、 CO_2 およびグルコースの資化効率向上と生産濃度/速度のさらなる向上を試みた。Chapter 2 で得られた生産濃度 3 g/L は、グルコースを単独原料とした理論最大収率の 40% にしか満たなかった。そこで、23BD 生産をただ向上するだけでなく、グルコース由来の炭素が CO_2 固定反応の基質としても効率よく供給されるように代謝改変することで収率向上を図った。その結果、連続光条件では理論最大収率の 136% の 23BD を生産した。すなわち、グルコースだけでなく、カルビン回路による CO_2 固定反応も物質生産に大きく寄与していることを示した。理論最大収率を上回りながらも、シアノバクテリアによる異種化合物生産では未だ達成されていない非常に高い生産濃度 (12.6 g/L) も達成できることは、大腸菌や酵母などの既存の工業生産宿主では実現不可能な特長である。

以上より、光独立栄養性シアノバクテリアの代謝改変を行うことで、光従属栄養的に化成品を生産する技術の有効性について示した。本方法によって、光独立栄養性であったシアノバクテリアの炭素代謝を劇的に変化できることは大変興味深い。特に、炭酸固定酵素の基質を補助炭素源から供給することで、炭酸固定効率を向上させるという新たなアプローチを提案することができた。シアノバクテリアだけでなく植物など、より広範な研究分野で興味を喚起できることを願っている。今後も、菌株の代謝改変だけでなく、高密度型リアクター等を使ってのプロセス最適化を行うことで、発酵生産レベルの生産性向上されなければならない。それだけでなく、経済合理性の判断もまた必要ではあるが、光合成による化成品生産の工業化への新たなアプローチとして、意義ある一歩になったと考えている。