

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)		
論文調査委員	主査	九州大学	准教授 花井 泰三
	副査	九州大学	教授 馬場 健史
	副査	九州大学	准教授 田代 幸寛
			(生物資源環境科学府)

論文審査の結果の要旨

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。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が、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いる。

このような状況下で、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。特に、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いる。しかし、その生産濃度の多くは mg/L オーダーであり、生産性が非常に低い。

シアノバクテリアによる物質生産では、従来の発酵生産とは異なる大きな問題点が存在する。それは、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ことと、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ことである。

本研究では、これらの問題を解決するために、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ている。これらの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できる。

そこで、本研究では、まず、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ている。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 *Synechococcus* 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ている。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、物質生産を実現している。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ている。さらに、実生産を模倣した高細胞密度条件では、OD₇₃₀ = 25 (~5 gDCW/L)、3 g/L もの 23BD が生産している。特に、高密度条件では、生産された 23BD 炭素のうち 33% は CO₂ 由来であることが ¹³C 安定同位体取り込み実験から明らかとなり、補助糖を使ったとしても CO₂ 固定

は十分に維持されることを示している。

次に、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ている。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 生産している。明暗光条件においても、585 mg/L の 23BD を生産している。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る。申請者は、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、毒性を軽減している。

最後に、より実生産に適した菌株構築のため、CO₂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ている。前述の方法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%にしか満たない。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 CO₂ 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目指している。その結果、連続光条件では理論最大収率の 136%の 23BD を生産することを示している。すなわち、グルコースだけでなく、カルビン回路による CO₂ 固定反応も物質生産に大きく寄与していることを示している。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ことである。

本研究は、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、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、23BD を生産ターゲットの一例として、10g/L 以上の生産量を達成したものであり、光合成による化成品生産について重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。

よって、本論文は博士 (システム生命科学) の学位論文に値するものと認める。