

Studies on improving ethanol productivity of self-cloning xylose-using *Saccharomyces cerevisiae* by endogenous genes utilization

福田, 明

<https://hdl.handle.net/2324/2236312>

出版情報 : 九州大学, 2018, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 福 田 明

論文題名 : Studies on improving ethanol productivity of self-cloning xylose-using *Saccharomyces cerevisiae* by endogenous genes utilization

(自己遺伝子を活用したセルフクローニングによるキシロース資化能付与
サッカロマイセス セレビスエのエタノール生産性向上に関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

近年、二酸化炭素排出量削減や持続可能な社会の形成を目指して、化石資源に代わり再生可能なバイオマス資源をエネルギー源や工業製品の原料にする取り組みが世界中で行われている。中でもバイオエタノールは輸送用燃料であるガソリンの代替としての利用を期待されている。バイオエタノールはサトウキビやトウモロコシ等食料を原料とする第一世代エタノールと、木や草等非食料を原料とする第二世代エタノールが存在する。食料との競合を回避するため、第二世代エタノールの開発が期待されるが、木や草に含まれ、エタノールの原料となる糖はグルコースだけでなく、キシロースが多く含まれることが特徴である。

糖のエタノールへの変換には世界中で醸造酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) が利用されている。しかしながら、醸造酵母はグルコースをエタノールに変換するのに優れるが、キシロースをエタノールへと変換することができない。一般的には、キシロースをエタノールへ変換できる他の微生物の遺伝子を醸造酵母へ導入し、キシロースからのエタノール生産能を付与しているが、このようにして改変された醸造酵母は外来生物の遺伝子を含むため遺伝子組換え生物に該当する。遺伝子組換え生物を用いてエタノール生産を行う場合、漏洩防止措置等に多額の費用が必要となり、エタノール生産の採算性悪化を招く。

本論文では、セルフクローニングと呼ばれる自己遺伝子のみを用いた手法でキシロース資化能を付与した醸造酵母 (以下、「キシロース資化能付与醸造酵母」と称す) を作製した。キシロース資化能付与醸造酵母は、外来生物の遺伝子を含まないため、遺伝子組換え生物に該当せず、通常の野生型酵母と同様に扱うことができる利点を持つ。さらに、キシロース資化能付与醸造酵母のキシロース培養時の菌体外および菌体内代謝物の経時変化データを測定し、キシロースからのエタノール生産経路 (図1) の数理モデルを構築した。構築した数理モデルの各代謝物挙動が実験データを再現することを確認した後に、感度解析を行い代謝経路中のボトルネック反応の推定と、推定したボトルネック反応の遺伝子改良による解消を試みた。

解消することでエタノール生産性向上への寄与が高いと予想されたボトルネック反応のうち、外来遺伝子の導入を伴わず、すなわち、セルフクローニングの範疇で実施可能であったアルコール脱水素酵素 (ADH1) の増強を実施した。アルコール脱水素酵素を増強した酵母 (以下、「ADH1 増強酵母」と称す) は、キシロースを唯一の炭素源としたフラスコスケールの培養では、目論見通り ADH1 増強前の酵母より 10.4 % 高いエタノール生産性を示した。続いて実際に木や草を原料としてエタノールを生産することを想定し、グルコースとキシロースを炭素源としてフラスコスケールにて培養したが、予想に反し ADH1 の増強前後でエタノール生産性に変化は見られなかった。グルコースの存在下で ADH1 増強によるエタノール生産性の向上が見られなかった原因として、グルコー

スが存在したことにより菌体内の酸化還元バランスが変化すると仮定し、次に 5-L 培養槽を用いて溶存酸素濃度を 0.2 ppm に制御し ADH1 増強効果を調べた。その結果、ADH1 増強酵母は ADH1 増強前より 9.6 % 高いエタノール生産性を示し、ADH1 の増強効果を確認した (図 2)。

本研究では、セルフクロニングの手法で醸造酵母にキシロース資化能を付与し、代謝物の経時変化データを取得することでキシロースからのエタノール生産経路の数理モデルを構築した。構築したモデルを用いた感度解析により、ADH1 の関与する反応が代謝経路中のボトルネック反応と推定し、実際に作製した ADH1 増強酵母での実験により推定が正しいことを示した。本サイクル (遺伝子改良、代謝物測定、モデル構築、ボトルネック推定) を繰り返すことで、キシロース資化能付与醸造酵母のさらなるエタノール生産性の向上が期待できる。

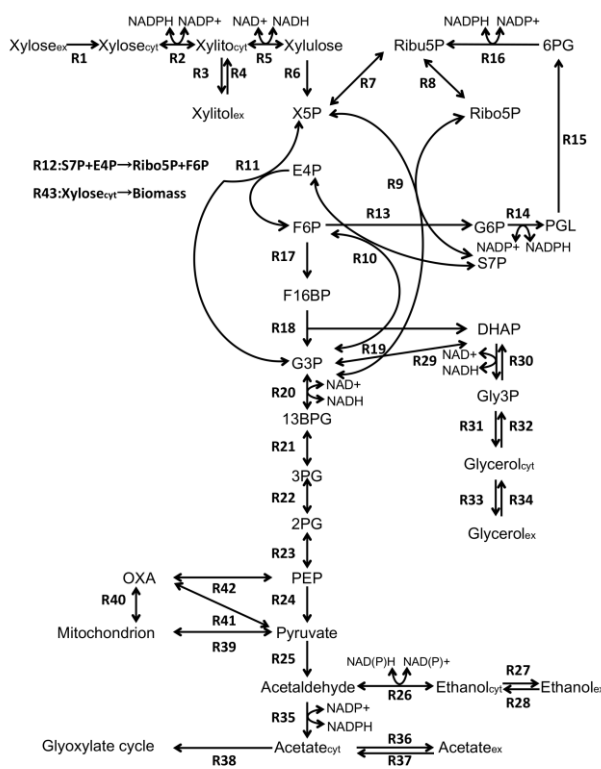


図 1 キシロースからのエタノール生産経路

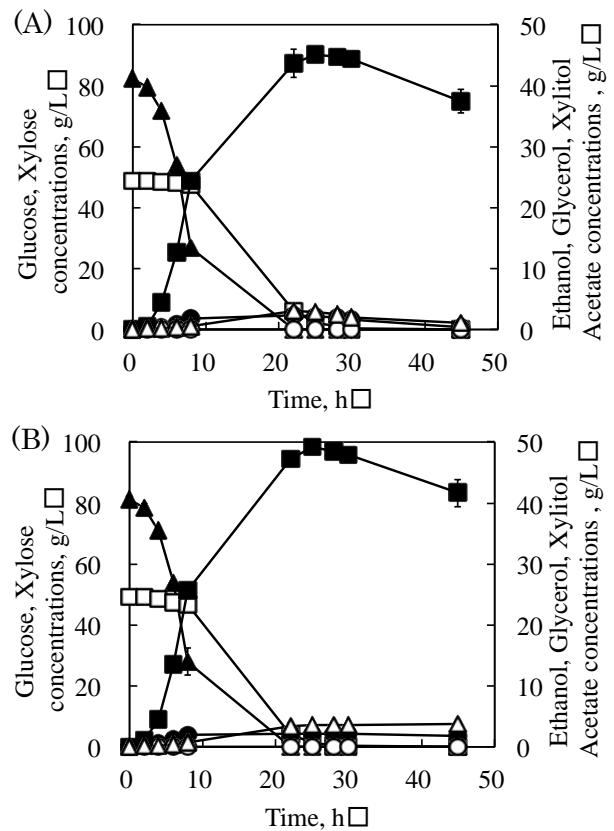


図 2 キシロース資化付与酵母の培養結果

(A) ADH1 増強前、(B) ADH1 増強後

- ▲: グルコース, □: キシロース,
- : エタノール, ○: キシリトール
- : グリセロール, △: 酢酸