

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			
論文名	Studies on improving ethanol productivity of self-cloning xylose-using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by endogenous gene 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 セレビスイエのエタノール生産性向上に関する研究)			
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	准教授	田代幸寛
	副査	九州大学	名誉教授	岡本正宏

論文審査の結果の要旨

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が期待されている。食糧との競合を回避するため、木や草等非食料を原料とする第二世代エタノールの開発が期待されるが、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、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。そのために、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する手法が一般的であるが、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。本研究は、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、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濃度の経時変化データを測定し、それらの実験データを再現する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ている。その後、エタノール生産経路中のボトルネック反応を推定し、推定したボトルネック反応のセルフクローニングによる遺伝子改良による解消を試み、検証した結果を取り纏めたものである。

まず、セルフクローニングの手法で醸造酵母にキシロース資化能を付与し、代謝物濃度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ている。次に、構築したモデルを用いた感度解析の実施後、エタノール生産経路中のボトルネック反応を推定し、推定したボトルネック反応解消のためのセルフクローニングによる遺伝子改良を試みている。

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、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) の増強を実施している。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、数理モデルからの推定通り、ADH1 増強前の酵母より約 10% 高いエタノール生産量を示している。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、数理モデルからの推定に反し ADH1 の増強前後でエタノール生産量に変化は見られていない。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したと推測し、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 増強効果を調べている。その結果、ADH1 増強酵母は ADH1 増強前より約 10% 高いエタノール生産量を示し、数理モデルを用いたボトルネック反応の推定が正しいことを示している。

以上要するに、本研究は、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を作製し、代謝物の経時変化を再現しうるエタノール生産経路の数理モデルを用いて代謝経路中のボトルネック反応を推定し、ボトルネック解消のために実際に作製した ADH1 増強酵母での実験により推定が正しいことを検証したもので、代謝工学およびシステム生物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。