



乳酸を生産可能な微生物

田中 勉

再生可能エネルギーであるバイオマスの有効利用といえば、真っ先に思い浮かぶのはバイオエタノールであろう。しかし、バイオ燃料だけでなくさまざまな有用化学品に変換できるのはバイオマスの特長である。中でも乳酸は、最もよく研究されているバイオプラスチック原料であり、ポリ乳酸は、最もよく普及している生分解性プラスチックである。乳酸にはL-乳酸とD-乳酸の光学異性体が存在する。高光学純度のL-乳酸およびD-乳酸から作られるステレオコンプレックス型ポリ乳酸は、通常のポリ乳酸と比較して融点・強度が高く、自動車の車体やスペースシャトルなどのボディとしての利用が注目されている。これらポリ乳酸の普及の足かせになっているのは、原料である乳酸の生産コストが高いことである。そのため、いかに安く、大量に乳酸を生産するか？という研究が数多くなされてきた。乳酸といえば乳酸菌、というのは早計であり、さまざまな微生物で乳酸生産系が開発されており、それぞれ一長一短である。ここでは、知っているようで知らない乳酸生産技術について、微生物ごとに紹介したい。

乳酸菌は、乳酸を生産する代表的な菌である。自然界にはL-乳酸のみを生産する乳酸菌、D-乳酸のみを生産する乳酸菌、そしてL-乳酸およびD-乳酸どちらも生産する菌の3種類が存在する。また、もともとデンプン資化能を持つ乳酸菌も発見されている。しかし、これらはいずれもその乳酸の生産性、光学純度の面から実用レベルを満足するものではなかった。そのため、よりよい菌のスクリーニングに加えて、遺伝子組換えによる菌の改変が行われてきた。たとえばバイオマス分解酵素を乳酸菌に発現させることで、デンプンからの直接乳酸生産が可能になった¹⁾。しかし、上述のD-乳酸のみを生産する乳酸菌に対しては、遺伝子工学技術が確立されておらずバイオマス分解酵素を発現させることができない。そこでL-乳酸およびD-乳酸どちらも生産する乳酸菌のL-乳酸デヒドロゲナーゼ (L-LDH) のみを破壊することで、高光学純度のD-乳酸のみを生産することにも成功している²⁾。乳酸菌の特長は、乳酸生産性 (g/l/h: 1時間に1 lの培養スケールで生産する乳酸の量) が非常に高いことである。一方で、乳酸菌における大きな問題は、最小培地 (合成培地) を使うことができず、結果として培地のコストがかかる点である。今後、代謝工学や合成生物学などのアプローチにより、安価な合成培地を見いだせるかどうかが課題である。

大腸菌 (*Escherichia coli*) も乳酸を作ることができる。大腸菌の利点として、最小培地 (合成培地) が知られており、最低限の添加物のみで安価に培養できる点、キシロースなどのC5糖も資化することができる点、の2点が

挙げられる。しかし、大腸菌における乳酸生産の一番の問題点は、乳酸だけでなくアミノ酸、コハク酸、ギ酸などの種々の有機酸に加えて、エタノールをも生産してしまう点である。1999年、Changらはフォスフォトランスアセチラーゼ遺伝子に変異を導入し、乳酸生産量を6倍向上させるとともに、他の有機酸の生産量を抑えることに初めて成功した⁴⁾。しかし、この株はアミノ酸要求性を持つため、培養コストが上がってしまうという問題が残った。そこでZhouらは、ビルビン酸-ギ酸リアーゼに変異を入れることで、他の有機酸の生産を抑えて乳酸のみを生産することに成功した⁵⁾。さらに、この株はグルコースに加えてキシロースからも乳酸を生産することが可能であり、またゲノムに変異をいれているために抗生物質などが不要であるという特長を持つ。しかし、解決すべき課題として生産性の向上 (発酵時間の短縮) および大腸菌自体の酸耐性の向上が残されている。

一方で、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を宿主とした乳酸生産技術も開発されている。酵母は酸耐性を持ち、また増殖と発酵が非連動型なので、繰り返し発酵が可能という利点を持つ。1994年、乳酸デヒドロゲナーゼの遺伝子を導入し、ビルビン酸を乳酸に変換することで、酵母での乳酸生産が報告された⁶⁾。しかし、酵母は元来ビルビン酸からエタノールを作ってしまうため、エタノール生成に関与する遺伝子ビルビン酸デカルボキシラーゼやアルコールデヒドロゲナーゼの遺伝子を欠損させるなどのアプローチが試みられている。だがやはり元来酵母はエタノール生産に優れているためか、これらの欠損により生育や発酵が著しく遅れてしまう問題点がある。こちらも、酵母の代謝経路の解析およびその改変により、乳酸のみを生産する酵母の開発が期待される。

また有機酸の生産に優れたコリネ型細菌にLDH遺伝子を導入することで乳酸を生産する研究なども報告されている⁷⁾。遺伝子導入による微生物の改変に加えて、代謝工学、合成生物工学的アプローチを用いて菌体内の代謝を最適化し、さらに微生物培養工学を用いて条件を最適化することができれば、乳酸生産量の向上とともに、他の有用化合物にも応用できるモデル例になると期待される。

- 1) Okano, K. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **85**, 413 (2010).
- 2) Okano, K. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **75**, 1007 (2007).
- 3) Okano, K. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **75**, 462 (2007).
- 4) Chang, D. E. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 1384 (1999).
- 5) Zhou, S. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 399 (2003).
- 6) Dequin, S. et al.: *Biotechnology*, **12**, 173 (1994).
- 7) Okino, S. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **68**, 475 (2005).