

1P-105 同時糖化発酵によるセルロースからのフェニル乳酸生産

○川口 秀夫¹, 中村 聡子¹, 荻野 千秋¹, 老沼 研一², 高谷 直樹², 近藤 昭彦¹
 (¹神戸大院・工・応化, ²筑波大院・生命環境)
 akondo@kobe-u.ac.jp

低炭素社会の実現に向けた、再生可能資源の利用が注目されている。リグノセルロース系バイオマスは莫大な賦存量と遍在性、また非可食性等の利点から、光合成を介した二酸化炭素の再資源化をベースとするバイオ燃料及びバイオケミカル生産分野における利活用が研究されている。フェニル乳酸は蜂蜜などに含まれる天然成分であり、ポリ乳酸等の従来型オレフィン系バイオポリマーに代わる、新規アロマ系プラスチック素材として期待される。しかしこれまでは、乳酸菌による単糖の発酵に関する研究が中心で、セルロース等の利用に至っていない。

そこで本研究では、セルロース系バイオマスからのフェニル乳酸生産プロセスの構築を目的に、同時糖化発酵を検討した。セルロースを主成分とする紙パルプを原料に、酵素製剤による糖化と、糸状菌由来3-フェニル乳酸生産酵素(PPR)を高発現させた大腸菌による発酵を組み合わせたプロセスを構築した。条件を最適化した結果、グルコース基質条件で10%であったフェニル乳酸の理論収率は、紙パルプを用いた同時糖化発酵では最大30%に増加し、終濃度は約2.5 g/Lであった。フェニル乳酸の収率は初期グルコース濃度と負の相関を示しており、同時糖化発酵におけるグルコース制限条件が、フェニル乳酸収率の向上に関与していることが示された。

本研究は、文部科学省「植物CO₂資源化研究拠点ネットワーク(NC-CARP)」の支援を受けて実施した。

Simultaneous saccharification and fermentation of cellulose for phenyllactic acid production

○Hideo Kawaguchi¹, Satoko Niimi-Nakamura¹, Chiaki Ogino¹, Kenichi Oinuma², Naoki Takaya², Akihiko Kondo¹
 (¹Dept. Chem. Sci. Eng., Grad. Sch. Eng, Kobe Univ., ²Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)

Key words simultaneous saccharification and fermentation, cellulose, phenyllactic acid, *Escherichia coli*

1P-107 CO₂固定による発酵収率向上技術

○藤井 亮太^{1,2}, Madhavan Anjali², Sun Chong Su², Jürgen-Lohmann Dominik Lucas², 遠藤 純子², 秀崎 友則², 松本 佳子¹, 天野 仰¹, 安楽城 正¹, 館野 俊博¹, 竹林 のぞみ¹, 森重 敬¹, 高橋 均¹, 白井 智量³, 和田 光史^{1,2}
 (¹三井化学・合成化学品研, ²三井化学シンガポール R&D セ, ³理研・CSRS)
 Ryota.Fujii@mitsui-chem.co.jp

アセチル CoA は発酵における重要な代謝中間体であり、たとえばイソプロピルアルコール、グルタミン酸、ロイシン、クエン酸、3-ヒドロキシ酪酸、など、さまざまな有用化学品の生産に関与している。我々は、CO₂を固定してアセチル CoA の生産量を増加させ、発酵収率を向上させる経路を設計した。本CO₂固定経路はさまざまな有用化学品の発酵生産に応用でき、産業上の高いインパクトが期待される。この経路を利用し、三井化学ではイソプロピルアルコールの発酵収率を向上させる技術を開発中である。また、三井化学シンガポール R&D センターでは他の有用化学品への展開を目指している。本発表では、一例としてグルタミン酸をターゲットとし、グルタミン酸生産菌にCO₂固定経路を導入した結果について報告する。

Increasing fermentation yield by CO₂ fixation

○Ryota Fujii^{1,2}, Anjali Madhavan², Chong Su Sun², Dominik Lucas Jürgen-Lohmann², Ayako Endo², Tomonori Hidesaki², Yoshiko Matsumoto¹, Koh Amano¹, Tadashi Araki¹, Toshihiro Taten¹, Nozomi Takebayashi¹, Takashi Morishige¹, Hitoshi Takahashi¹, Tomokazu Shirai³, Mitsufumi Wada^{1,2}
 (¹Mitsui Chemicals, Synthetic Chemicals Lab., ²Mitsui Chemicals Singapore R&D Centre, ³RIKEN, CSRS)

Key words CO₂ fixation, metabolic engineering, acetyl CoA, glutamate fermentation

1P-106 対糖収率を向上させたイソプロピルアルコール生産大腸菌の開発

○松本 佳子¹, 藤井 亮太^{1,2}, 天野 仰¹, 白井 智量⁴, 安楽城 正¹, 平野 淳一郎¹, 高橋 均¹, 竹林 のぞみ¹, 森重 敬¹, 館野 俊博¹, 平沢 敬³, 古澤 力³, 清水 浩³, 和田 光史^{1,2}
 (¹三井化学・合成化学品研, ²三井化学シンガポール R&D セ, ³阪大院・情報・バイオ情報, ⁴理研・CSRS)
 Mitsufumi.Wada@mitsui-chem.co.jp

我々は植物由来ポリプロピレン (PP) を実現すべく、その原料となるイソプロピルアルコール (IPA) をグルコースから高生産する組換え大腸菌を開発している。

昨年の年大会において大腸菌の代謝工学的改変を行い、2株のIPA高生産大腸菌の開発について報告した。

今回はIPA対糖収率向上の取り組みについて報告する。通常グルコース1分子からIPAは1分子生成され、対糖収率は33%となる。CO₂を固定化することができれば、33%以上の対糖収率を実現できる。野生型大腸菌ではPEPからオキサロ酢酸の反応で1分子のCO₂を固定することができる。さらにオキサロ酢酸はリンゴ酸へと変換され、ここにメタン酸化性菌由来の遺伝子を導入することによりアセチル CoA に変換することができる。ここで生成するアセチル CoA も IPA へ変換されることから、この経路によりIPAの対糖収率が向上できる。本発表では、実際にこの経路が動いていることを実証した結果について報告する。

Development of Isopropyl Alcohol-Producing *Escherichia coli* enhanced glucose yield

○Yoshiko Matsumoto¹, Ryota Fujii^{1,2}, Koh Amano¹, Tomokazu Shirai⁴, Tadashi Araki¹, Junichiro Hirano¹, Hitoshi Takahashi¹, Nozomi Takebayashi¹, Takashi Morishige¹, Toshihiro Taten¹, Takashi Hirasawa³, Chikara Furusawa³, Hiroshi Shimizu³, Mitsufumi Wada^{1,2}
 (¹Synthetic Chemicals Lab., Mitsui Chemicals, ²Mitsui Chemicals Singapore R&D Centre, ³Dept. Bioinfo. Eng., Grad. Sch. IST, Osaka Univ., ⁴CSRS, RIKEN)

Key words Isopropyl alcohol, *Escherichia coli*, metabolic engineering

1P-108 油糧微生物 *Mortierella alpina* 1S-4 における外来不飽和化酵素遺伝子発現による高度不飽和脂肪酸生産

○菊川 寛史¹, 浅岡 卓也¹, 櫻谷 英治¹, 奥田 知生¹, 安藤 晃規², 阪本 鷹行¹, 島 純³, 小川 順¹
 (¹京大院・農・応用生命, ²京大・生理ユニット, ³京大・微生物科学)
 esakura@kais.kyoto-u.ac.jp

【背景・目的】糸状菌 *Mortierella alpina* 1S-4 は、アラキドン酸 (ARA) など有用な高度不飽和脂肪酸 (PUFA) を生産する。本菌の PUFA 生合成には様々な不飽和化酵素 (DS) 及び鎖長延長酵素 (EL) が関与しており、DS はリン脂質を、EL はアシル CoA を主に基質とする。このように DS と EL の基質となる脂質形態が異なるため、脂質間のアシル基転移反応が PUFA 生合成の律速と考えられる。近年、藻類や昆虫からアシル CoA を基質とする DS をコードする遺伝子が単離され諸性質が解明された。そこで、本菌においてアシル CoA を基質とする数種の DS 遺伝子を共発現することで PUFA 生産性の向上を試みた。【方法・結果】外来 DS 遺伝子として藻類 *Pavlova salina* 由来 Δ5DS、藻類 *Ostreococcus lucimarinus* 由来 Δ6DS、及び昆虫 *Tribolium castaneum* 由来 Δ12DS 遺伝子を用いた。これら遺伝子を本菌発現用にコドン改変し、高発現プロモーターで制御される発現ベクターを構築し本菌に導入した。得られた形質転換株をGY培地(2% Glucose, 1% Yeast extract)にて培養後、菌体中の総脂肪酸をメチルエステル誘導体化し、ガスクロマトグラフィーによる定性・定量分析に供した。その結果、Δ5DS と Δ6DS の共発現により PUFA の最終産物である ARA の生産性が向上した。

Production of polyunsaturated fatty acids by expression of heterologous fatty acid desaturase genes in oleaginous filamentous fungus *Mortierella alpina* 1S-4

○Hiroshi Kikukawa¹, Takuya Asaoka¹, Eiji Sakuradani¹, Tomoyo Okuda¹, Akinori Ando², Takaiku Sakamoto¹, Jun Shima³, Jun Ogawa¹
 (¹Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ., ²Res. Unit Physiol. Chem., Kyoto Univ., ³Res. Div. Microbial Sci., Kyoto Univ.)

Key words *Mortierella alpina* 1S-4, fatty acid desaturase, polyunsaturated fatty acid, acyl-CoA