

### 3P-045 バイオマス糖化液由来成分が大腸菌のフェニル乳酸発酵に与える影響

○川口 秀夫<sup>1</sup>, 寺村 浩<sup>1</sup>, 中村 聡子<sup>1</sup>, 荻野 千秋<sup>1</sup>, 原 清敬<sup>2</sup>, 蓮沼 誠久<sup>2</sup>, 老沼 研一<sup>3</sup>, 高谷 直樹<sup>3</sup>, 平野 恒<sup>4</sup>, 佐塚 隆志<sup>4</sup>, 北野 英己<sup>4</sup>, 近藤 昭彦<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>神戸大・工・応化, <sup>2</sup>神戸大・自科・研究環, <sup>3</sup>筑波大院・生命環境, <sup>4</sup>名大・生物機能セ)  
akondo@kobe-u.ac.jp

【背景と目的】フェニル乳酸 (PhLA) は、新規芳香族系バイオポリマー素材として応用が期待される一方、再生可能資源であるリグノセルロース系バイオマスを原料とする発酵に関する知見は限定的である。そこで本研究では、エネルギー作物として注目されるイネ科の C4 植物ソルガムの利用を想定し、ソルガム由来成分が組換え大腸菌によるフェニル乳酸発酵に与える影響を解析した。【結果と考察】ソルガムバガスの希硫酸前処理固体画分とろ紙を原料に、セルラーゼを用いて糖化液を調製し、糸状菌由来 PhLA 生産酵素を高発現させた組換え大腸菌による糖化後発酵を行った。糖化液の添加は、増殖およびグルコース消費に影響しない一方で代謝に影響を及ぼし、特にソルガム糖化液では PhLA 収量が半減した。そこで、ソルガム糖化液、ろ紙糖化液、発酵培地の 3 培養条件から発酵細胞を回収し、メタボロームによる比較解析を行った結果、糖化液特異的およびソルガム特異的な代謝プロファイルの変動が認められ、バイオマス由来成分による代謝阻害の作用点を抽出することができた。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。

#### Effects of hydrolysate of lignocellulosic biomass on phenyllactate fermentation by recombinant *Escherichia coli*

○Hideo Kawaguchi<sup>1</sup>, Hiroshi Teramura<sup>1</sup>, Satoko Niimi-Nakamura<sup>1</sup>, Chiaki Ogino<sup>1</sup>, Kiyotaka Hara<sup>2</sup>, Tomohisa Hasunuma<sup>2</sup>, Ken-Ichi Oinuma<sup>3</sup>, Naoki Takaya<sup>3</sup>, Ko Hirano<sup>4</sup>, Takashi Sazuka<sup>4</sup>, Hidemi Kitano<sup>4</sup>, Akihiko Kondo<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Chem. Sci. Eng., Fac. Eng., Kobe Univ., <sup>2</sup>Org. Adv. Sci. Technol. Kobe Univ., <sup>3</sup>Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, <sup>4</sup>Biosci. Biotechnol. Cent., Nagoya Univ.)

**Key words** biomass, *Escherichia coli*, phenyllactate, Sorghum

### 3P-047 1-ブタノール生産組換え大腸菌の代謝物プロファイリング

○大竹 利幸<sup>1</sup>, Sastia Prama Putri<sup>1</sup>, Liao James<sup>2</sup>, 馬場 健史<sup>1</sup>, 福崎 英一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>阪大院・工・生命先端・生工, <sup>2</sup>Dept. Chem. Biomol. Eng., UCLA)  
fukusaki@bio.eng.osaka-u.ac.jp

近年、ガソリンを代替・補完するバイオ燃料として 1-ブタノールが注目されている。UCLA の Liao らは野生株のクロストリジウム属細菌と同程度の生産性を示す 1-ブタノール生産遺伝子組換え大腸菌の育種に成功している。しかしながら、実用化に向けては収率、生産性ともにさらなる向上が必要である。本研究では、微生物による物質生産性の向上を目的とした分子育種戦略構築において非常に有効な手段であると期待されているメタボロミクスを実施し、当該 1-ブタノール生産組換え菌の代謝状態を検証した。アセチル CoA から酢酸への経路を破壊した株と非破壊株の 2 株に対して得られたメタボロームデータを多変量解析に供したところ、遺伝子改変によって生じた予期せぬ副産物の蓄積を観察することができた。それらの結果は細胞内レドックスバランスが崩れた結果によるものと考えられ、今後生産量向上を目的とした育種につながるかと期待される。

#### Metabolic profiling of 1-butanol producing transgenic *Escherichia coli*

○Toshiyuki Otake<sup>1</sup>, Sastia Prama Putri<sup>1</sup>, James Liao<sup>2</sup>, Takeshi Bamba<sup>1</sup>, Eiichiro Fukusaki<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biotechnol., Div. Adv. Sci. Biotechnol., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., <sup>2</sup>Dept. Chem. Biomol. Eng., UCLA)

**Key words** metabolic analysis, metabolic engineering, *Escherichia coli*, butanol

### 3P-046 ハイグロマイシン B の作用機構の解明を志向したメタボローム解析

○長澤 由美子<sup>1</sup>, 橋爪 秀樹<sup>2</sup>, 石崎 仁将<sup>2</sup>, 馬場 健史<sup>1</sup>, 福崎 英一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>阪大院・工・生命先端・生工, <sup>2</sup>微化研)  
fukusaki@bio.eng.osaka-u.ac.jp

【背景】抗生物質は、実用に必要な抗菌スペクトルや大まかな作用機構が知られている場合でも、詳細な作用点及び作用機序について明らかにすることは難しいとされている。たとえば、アミノグリコシド系抗生物質は、タンパク合成阻害剤として知られているが、タンパクの誤翻訳による影響が細胞死につながるのか明らかになっておらず、タンパク翻訳機構と Cpx エンベロープストレス応答などの関与についても提案されているが作用機序の決着はついていない。そこで本研究では、代謝物を網羅的に測定できるメタボロミクスに着目し、これまでの知見との比較、新たな知見を得ることを目的として研究を行った。【方法・結果】出芽酵母に希釈したタンパク合成阻害剤を暴露しサンプルを作成し、LC/MS を用いて分析後、多変量解析を行った。その結果、得られた代謝物と高分子合成阻害様式を放射ラベル体の取り込みのデータから、ハイグロマイシン B が他のタンパク合成阻害剤と挙動が異なり、MIC 付近ではタンパク質合成が顕著ではない場合でも、代謝物に対して影響があることが示唆された。このことから、タンパク合成阻害が行われるよりも先に活性炭素種の過剰生産により、細胞死が引き起こされていることが示唆された。

#### Metabolomics approaches for the elucidation of Hygromycin B functioning mechanism

○Yumiko Nagasawa<sup>1</sup>, Hideki Hashizume<sup>2</sup>, Yoshimasa Ishizaki<sup>2</sup>, Takeshi Bamba<sup>1</sup>, Eiichiro Fukusaki<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biotechnol., Div. Adv. Sci. Biotechnol., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., <sup>2</sup>IMC)

**Key words** antibiotics, *Saccharomyces cerevisiae*, metabolic analysis, LC/MS

### 3P-048 Dual-pathway によるシナジーの代謝ターンオーバー解析

○Sastia Putri<sup>1</sup>, 中山 泰宗<sup>1</sup>, Liao James<sup>2</sup>, 馬場 健史<sup>1</sup>, 福崎 英一郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>阪大院・工・生命先端・生工, <sup>2</sup>Dept. Chem. Biomol. Eng., UCLA)  
fukusaki@bio.eng.osaka-u.ac.jp

1-プロパノール生産における細胞内代謝の動態を調べるため、代謝ターンオーバー解析を行った。本手法は標識基質を加えた後のアイソトポマー比の経時変動を代謝物毎に観測することで、代謝全体がどのように動いているかを調べる手法である。本研究ではキャピラリー電気泳動質量分析およびガスクロマトグラフィー質量分析を用いて、13C6-グルコースの代謝をモニターし、スレオニン経路、シトラマル酸経路および両経路による 1-プロパノールの生産時の代謝動態を確認した。結果として両経路による 1-プロパノールの生産では、スレオニン経路の TCA 回路依存性および副産物の乳酸の生産が低減されていることが確認された。またスレオニン経路によりシトラマル酸経路のターンオーバーが加速されていることも観測され、両経路が相乗的に働いていることが確認された。

#### Metabolic profiling and turnover analysis validates synergy in 1-propanol producing *Escherichia coli*

○Putri Sastia<sup>1</sup>, Yasumune Nakayama<sup>1</sup>, James Liao<sup>2</sup>, Takeshi Bamba<sup>1</sup>, Eiichiro Fukusaki<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biotechnol., Div. Adv. Sci. Biotechnol., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., <sup>2</sup>Dept. Chem. Biomol. Eng., UCLA)

**Key words** metabolic analysis, *Escherichia coli*, 1-Propanol, synergistic effect