



# Microbial production of xylitol from L-arabinose by metabolically engineered *Escherichia coli*

代謝改変大腸菌を用いたL-アラビノースからのキシリトール生産

(JBB, Vol.107, No.5, 506–511, 2009)

榊原 祥清<sup>1\*</sup>・Badal C. Saha<sup>2</sup>・Paul Taylor<sup>3</sup>

キシリトールは世界各国で食品添加物としての使用が認められている天然甘味料であり、低カロリー、抗う蝕作用などの現代の健康志向に適した特性を持つことから、機能性甘味料として需要の増加が見込まれている。現在、キシリトールは主にパルプやコーンコブ由来のキシランから得られるキシロースを化学的に還元することによって生産されている。昨今、食料と競合しない稲わらなどのバイオマス資源の有効利用が注目を集めているが、これらの未利用バイオマス資源のヘミセルロース画分にも多くのキシロースが含まれている。しかしながら、これらの原料中にはキシロースの他にL-アラビノースも多量に含まれるため、化学的還元法ではL-アラビトールが副生してしまい、余計な精製工程が必要となる。そこで筆者らは、キシロースと併せてL-アラビノースもキシリトールに変換することにより、さまざまな未利用バイオマス資源をキシリトール生産の原料として利用できるようになると考え、組換え大腸菌を用いたL-アラビノースからのキシリトール発酵生産法の開発に取り組んだ。

最初に、L-アラビノースからキシリトールへの変換経路として、L-アラビノース資化性真菌の代謝経路の利用を試みた。すなわち、キシロースレダクターゼ (XR) によってL-アラビノースをL-アラビトールに還元した後、L-アラビトール4-デヒドロゲナーゼ (LAD) によりL-キシロロースに酸化し、続いてL-キシロロースレダクターゼ (LXR) によってキシリトールに変換するものである。種々の微生物由来の酵素遺伝子を大腸菌で発現させたが、十分な変換能を持つLADを見いだすことができず、XR-LAD-LXRを共発現させてもL-アラビトールが蓄積し、キシリトールはほとんど得られなかった。

次に、L-アラビトールを経ずにL-アラビノースをキシリトールに変換する経路の構築を試みた。真菌と異なり、大腸菌のL-アラビノースの代謝経路では、まずL-アラビノースイソメラーゼ (AraA) によりL-リブロースに変換される。前述の研究過程で、*Ambrosiozyma monospora*由来のLXRを発現させた大腸菌が、L-キシロロースをキシリトールへ変換することを確認していたので、L-リブロースからL-キシロロースへの変換さえ

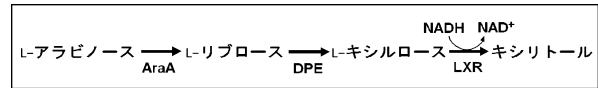


図1. L-アラビノースからキシリトールへの変換経路

できれば、キシリトールが合成できると考えた(図1)。すでにItohらによって、*Pseudomonas cichorii*のD-タガトース3-エピメラーゼ (DTE) がL-リブロースをL-キシロロースにエピマー化することが報告されており、DTEの配列を基にホモロジー検索を行い、*Rhizobium radiobacter*のゲノムからD-タガトース3-エピメラーゼと相同性の高い遺伝子 (*dpe*) を単離した。

AraA, DPE, LXRの3つの酵素(図1)を共発現する発現プラスミドを構築し、L-アラビノース代謝オペロン (*araBAD*) およびL-キシロロキナーゼを欠損した大腸菌を形質転換したところ、L-アラビノースからキシリトールへの変換が起こった。しかし、キシリトールの収率は0.62 g/g L-arabinoseに留まった。この理由として、3番目の還元反応に必要なNADHの不足が考えられた。そこで、グリセロール資化によるNADHの再生を試みた。L-アラビノースと等量のグリセロールを培地に添加し、1 lのジャーファーメンターを用いた30時間培養により、15.2 g/lのL-アラビノースから14.5 g/lのキシリトールが合成され、非常に高いキシリトール収率 (0.95 g/g L-arabinose) を達成した。

バイオマス資源に含まれるヘミセルロースから効率的にキシリトールを生産するには、キシロースとL-アラビノースの双方から同時にキシリトールを生産することが必要である。しかし両者の変換経路を組み合わせることは容易ではない。たとえば、キシロースをキシリトールに変換するXRはL-アラビノースもL-アラビトールに還元してしまうからだ。現在、酵素の基質特異性の改変などを行い、両5炭糖をキシリトールに変換する微生物の開発を目指している。

- 1) Itoh, H. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 2168 (1994).

\*著者紹介 <sup>1</sup>農研機構食品総合研究所食品バイオテクノロジー研究領域 (主任研究員) E-mail: sakaki@affrc.go.jp

<sup>2</sup>米国農務省農業利用研究センター、<sup>3</sup>ズーケム社