

大腸菌を利用したバイオ燃料生産

横地 奈菜

地球温暖化や化石燃料の枯渇という問題に直面している現在、持続・再生可能な燃料をバイオマスから生産する技術開発が精力的に行われている。なかでもポストバイオエタノールと言われているバイオブタノールは燃料としてだけでなく、塗料や合成ゴムなどの化成品の原料としても有望である。ブタノールが燃料として注目される理由には、エネルギー密度の高さや低腐食性、低水溶性などの利点を有していること、ガソリンおよびディーゼル燃料との混合も可能であることがあげられる。

ブタノール生産菌としては、ブタノール・アセトン生産菌（ABE生産菌）である嫌気性*Clostridium*属細菌が知られており、ブタノール・アセトンの他にエタノールを副生産する。ABE生産菌にはブタノール生産速度や生産性の低さ、アセトンなどの副産物の生成といった問題があり、ブタノール生産への実用化を考えるとまだまだ多くの課題がのこる。

近年、このような問題を回避するための一つの方法として、増殖速度が速く、遺伝子改変が容易な大腸菌を分子育種し、ブタノールを生産する試みがなされている。ABE生産菌のブタノール生合成遺伝子を導入したり^{1,2)}、アミノ酸生合成経路を応用し³⁾、本来ブタノールを生産できない大腸菌に作らせるのである。しかし、これらの方法では副産物を含まないブタノールは生産できるものの最大でも約5 g/lと低く、生産性の向上には至っていない。

最近、Dellmonacoらは、脂肪酸のβ-酸化経路を逆進させるように遺伝子改変し、より効率的にバイオブタノールを生産できるように大腸菌を分子育種した⁴⁾。具体的には、β-酸化経路の数種の調節タンパク質をノックアウトもしくは遺伝子改変により無効化させた。また、β-酸化経路内で唯一の不可逆的反応であるアシル-CoAデヒドロゲナーゼ反応の逆反応を補完させるため、大腸菌内在性アシルトランスフェラーゼ遺伝子を過剰発現させた。加えて、代謝中間体の競合的経路（エタノールや酢酸合成経路など）への流出を防ぐため、アルコールデヒドロゲナーゼ関連遺伝子などをノックアウトした。さらに、*Clostridium*属のブチルアルデヒド/ブタノールデヒドロゲナーゼと相同性をもつ大腸菌内在性遺伝子（同一性42%、類似性62%）を共発現させた。このようにして作製した組換え大腸菌において、ブタノール生産は次のような過程で進む。(1) グルコースが解糖系を経て

アセチル-CoAへと変換される。(2) 2分子のアセチル-CoAは、β-酸化経路の逆反応を経て、ブチリル-CoAとなる。(3) ブチルアルデヒド/ブタノールデヒドロゲナーゼにより、ブチリル-CoAからブタノールが生産される。この株を用いると、2%のグルコースから24時間で*n*-ブタノールが2.2 g/l生産された。さらにバイオリアクターを用いた培養では、5%のグルコースから36時間で14.5 g/l（対糖収率33%）の*n*-ブタノールを生産した。この生産性はこれまでに遺伝子改変して作製された菌と比較して非常に高く、既存のブタノール生産菌と比べても同等もしくはそれ以上の生産能であった。

また、β-酸化経路を逆進させると、1回転あたり2つの炭素が伸長したアシル-CoAが生成される。そこで、ブタノールデヒドロゲナーゼの代わりに他のアルコールデヒドロゲナーゼを発現させることにより、炭素鎖長や機能の異なるアルコール類を生産することが可能であることも示されている⁴⁾。

この反応系の特徴は、外来遺伝子を導入することなく、化合物生産ができる点である。β-酸化経路は広く微生物に存在するため、大腸菌だけでなくさまざまな微生物への応用が可能である。現時点ではまだ検討すべき点があるが、セルラーゼとの共発現もしくはセルロース分解菌と共培養させるなど、バイオマスからの生産を見据えた分子育種へのさらなる発展が期待される。

微生物による化合物生産は、目的化合物生産のための酵素タンパク質をコードする遺伝子の合理的選択、その遺伝子の発現、競合する経路の遮断などさまざまな問題があり、多角的に考える必要がある。特に重要なことは、宿主内の代謝バランスを保つことであると考えられる。今後、ABE生産菌をはじめとする多くの微生物に関する遺伝子工学や代謝工学などの研究が進んでいくことにより、より優れた生産菌の育種・構築が可能となっていくだろう。

- 1) Inui, M. et. al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **77**, 1305 (2008).
- 2) Bond-Watts, B. B. et. al.: *Nature Chem. Biol.*, **7**, 222 (2011).
- 3) Atsumi, S. et. al.: *Nature*, **451**, 87 (2008).
- 4) Dellmonaco, C. et al.: *Nature*, **476**, 355 (2011).