



Improvement of isopropanol production by metabolically engineered *Escherichia coli* using gas stripping

ガストリッピングを用いた組換え大腸菌によるイソプロパノール生産の向上

(JBB, Vol. 110, No. 6, 696 – 701, 2010)

猪熊健太郎^{1a}・James C. Liao²・岡本 正宏¹・花井 泰三^{1*}

近年、低炭素循環型社会実現の観点から、再生可能資源からのバイオアルコール生産に関する研究が盛んに行われている。現在、バイオアルコール生産の主流は炭素数2のエタノールであるが、次世代のバイオアルコールとして、より炭素数の多いアルコールの生産にも注目が集まっている。その中でも筆者らは、触媒により容易にプロピレンに変換できるイソプロパノールに着目した。プロピレンはプラスチックとして広く利用されている物質であり、将来工業製品の原料として世界的な需要の拡大が見込まれている。現在、プロピレンは主に石油精製の副産物として生産されているが、これを再生可能資源から高効率に生産できるようになれば、その意義は極めて大きい。

イソプロパノールを生産する菌としては *Clostridium beijerinckii* などが知られているが、その生産量は低く、また遺伝子組換え系の確立も不十分であることから、工業レベルでのイソプロパノール生産は困難であった。一方で筆者らは、以前の研究において上記の *Clostridium* 属細菌のイソプロパノール生産に関与する遺伝子を導入、高発現させた組換え大腸菌 (TA76株) を作製し、グルコースからのイソプロパノール生産に成功した¹⁾。しかしながら、その生産量 (81.6 mM) は工業レベルで満足できるものではなく、生産量の向上が急務であった。

そこで本研究では、まず、この菌の発酵条件の最適化によるイソプロパノール生産量の向上を試みた。その結果、最適化前の8倍以上にあたる 667 mM (40.1 g/l) にまで生産量が向上した。しかしながら、培養液中のイソプロパノール濃度が 600 mM を超えると大腸菌の発酵生産に強力な阻害がかかる事がわかり、さらなる生産量の向上にはこの生産物阻害の回避が不可欠であった。そこで、この阻害を回避し、同時に生産されたイソプロパノールを回収する方法として、筆者らはガストリッピング法を用いた。この方法は、滅菌された空気を培養装置に送り込むことでアルコールなどの揮発を促し、そ

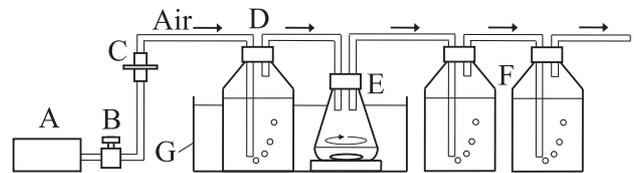


図1. ガストリッピングを組み合わせたイソプロパノール生産、回収システム。A, エアポンプ; B, ニードルバルブ; C, 滅菌フィルター; D, 通気加湿用ボトル; E, 培養フラスコ; F, 回収用ボトル; G, ウォーターバス。

の排気を水にくぐらせることで揮発した成分を溶解させ、回収するものである (図1)。

このガストリッピング法を用い、さらに培養中に培地成分の補給を行った結果、この組換え大腸菌は 240 h の長期にわたり生産物阻害を受けることなくイソプロパノール生産を続け、その総生産量は改良前の3倍以上に上昇した。仮にこのイソプロパノールがすべて培養液に溶解していたと仮定した場合の濃度は 2378mM (143 g/l) という驚くべき値であり、これはすでに実用化されているグルコースからの 1,3-プロパンジオールの発酵生産の最大濃度と同等あるいはそれ以上である。

本研究により、組換え大腸菌を用いたイソプロパノール生産の高いポテンシャルが明らかとなり、これまで困難と考えられてきたイソプロパノールの工業レベルの発酵生産に初めて道が開かれた。今後はこの大腸菌のさらなる遺伝子的改良により、生産の高速化、収率の向上、利用可能な基質の拡大等を行っていきたい。また、本研究で得られた知見が、組換え大腸菌を用いたさまざまなバイオアルコールの生産、回収法の確立に応用される事を期待したい。

1) Hanai, T. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 7814 (2007).

*著者紹介 ¹九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門 (准教授) E-mail: taizo@brs.kyushu-u.ac.jp

²Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of California, Los Angeles, ^a現、富山大学工学部 生物工学 第90巻