



Efficient butanol production without carbon catabolite repression from mixed sugars with *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4

混合糖からのカタボライト抑制を回避した効率的なブタノール生産

(JBB, Vol. 116, No. 6, 716–721, 2013)

野口 拓也¹・田代 幸寛¹・吉田 剛士¹・Jin Zheng¹・酒井 謙二¹・園元 謙二^{1,2*}

アセトン-ブタノール-エタノール (ABE) 発酵によって生産されるブタノールはエタノールと比較して、高熱量、低蒸気圧、低吸湿性を有し、優れた代替燃料として期待されている。近年の人口増加に伴う食糧資源問題の観点から、*Clostridium* 属細菌による ABE 発酵では、非食糧バイオマス、特にリグノセルロース系バイオマスの有効利用を目的とした研究が盛んに行われている¹⁾。リグノセルロース系バイオマス中にもっとも多く含まれるセルロースは強固な結晶構造を形成しており、物理的・化学的前処理によってその構造が分解あるいは非結晶 (アモルファス) 状態になると酵素による糖化が可能となる²⁾。酵素によるセルロースの分解にはセルロース分子内部のβ-1,4-グリコシド結合を分解するエンドグルカナーゼ、セロビオースを遊離するセロビオヒドラーゼ、最終生産物であるグルコースを生成するβ-グルコシダーゼが関与する。グルコースは微生物によるバイオ燃料生産においてもっともよく用いられる糖であるが、上述したすべての分解酵素に対して生産物阻害因子として働くことが知られている。したがって、酵素糖化プロセスではこの阻害を回避するためにβ-グルコシダーゼの追添加が行われるが、これが酵素糖化プロセスの高コスト化を招く³⁾。

一方、糖化後の加水分解物に含まれる糖はグルコース (セルロース由来) とキシロース (ヘミセルロース由来) に大別されるが、このような複数の糖を含む混合糖を基質とした場合、グルコースの存在によってキシロースのような糖の消費が抑制される「カーボンカタボライト抑制 (CCR)」が生じる。これまでCCRの回避を目的とした ABE 生産 *Clostridium* 属細菌の育種がいくつか報告されているものの⁴⁾、野生株を用いてCCRを回避した例は報告されていない。本論文では、*Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (N1-4) を使用菌株として、CCRを回避した混合糖からの効率的なブタノール生産を検討した。

これまでの研究において、N1-4はエタノール生産菌である酵母とは異なり、キシロースやアラビノース、セ

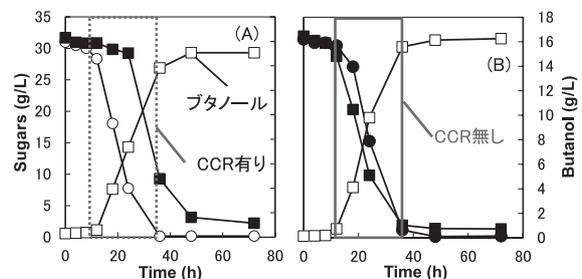


図1. グルコース (○) /キシロース (■) 混合糖 (A) とセロビオース (●) /キシロース混合糖 (B) を用いたブタノール生産。

ロビオース (グルコースの二糖) などリグノセルロース系バイオマスを構成する糖を利用できることが明らかとなっている⁵⁾。したがってN1-4本来の特徴を活かした発酵工学的アプローチを用いて研究を行った。従来、混合糖を用いたブタノール生産研究では、グルコース/キシロースを含む混合糖が用いられてきたが、我々はCCRの原因物質であるグルコースではなく、セロビオース/キシロース混合糖を基質として用いた。その結果、セロビオースおよびキシロースの同時消費、すなわち、野生株によるCCRを回避した効率的なブタノール生産に世界で初めて成功した (図1)。さらに、本研究はこれまでの混合糖を用いたブタノール生産研究の中で、最短時間 (72 h) で最大のブタノール生産濃度 (16 g/L) を達成した。

本論文成果は新規糖化方法や育種戦略への展開が可能であり、筆者らが提唱するスマート発酵工学³⁾ (発酵工学、植物育種学、さらに分子微生物学を巻き込んだ新規学際的研究) を体現する基盤となる。

- 1) Tashiro, Y. *et al.*: *Eng. Life Sci.*, **13**, 432 (2013).
- 2) Abdel-Rahman, M. A. *et al.*: *Biotechnol. Adv.*, **31**, 877 (2013).
- 3) 野口拓也ら: *バイオサイエンスとインダストリー*, **71**, 530 (2013).
- 4) Ren, C. *et al.*: *Metab. Eng.*, **12**, 446 (2010).
- 5) Yoshida *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **114**, 526 (2012).

* 著者紹介 ¹九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門 (教授) E-mail: sonomoto@agr.kyushu-u.ac.jp
²九州大学バイオアーキテクチャーセンター