

講演番号：2A12p13

講演日時：3月16日 16:32～ 共通講義棟北 A12 会場

ラン藻 *Synechococcus elongatus* PCC 7942 を利用した Milking 方式によるバイオ燃料生産の生産性向上

Improvement of free fatty acid production via milking using cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942

○加藤 明宏<sup>1,4</sup>、高谷 信之<sup>1,4</sup>、池田 和貴<sup>2,4</sup>、愛知 真木子<sup>3,4</sup>、前田 真一<sup>1,4</sup>、小俣 達男<sup>1,4</sup> (1名大・院・生命農、<sup>2</sup>理研・IMS、<sup>3</sup>中部大・応用生物、<sup>4</sup>JST MIRAI)

○Akihiro KATO<sup>1,4</sup>, Nobuyuki TAKATANI<sup>1,4</sup>, Kazutaka IKEDA<sup>2,4</sup>, Makiko AICHI<sup>3,4</sup>, Shin-ichi MAEDA<sup>1,4</sup>, Tatsuo OMATA<sup>1,4</sup> (<sup>1</sup>Grad. Sch. Bioagr. Sci., Nagoya Univ., <sup>2</sup>Lab, for Metabolomics, RIKEN center for Integ. Med. Sci., <sup>3</sup>Col. of Biosci. and Biotech., Chubu Univ., <sup>4</sup>JST MIRAI)

#### [背景]

Milking 方式とは、生産物を継続的に細胞外に放出させて回収する生産方法のことを意味しており、生産コストの低減を可能とする。原核藻類であるラン藻は、遺伝子操作によって遊離脂肪酸 (FFA) を細胞外へと放出するため、Milking 方式によるバイオ燃料生産の有力なホストとして期待されている。しかしながら、先行研究で報告されているラン藻の FFA 生産性は実用化に必要なとされている値の 10 分の 1 程度であり、生産性の大幅な向上が必要とされている (Liu et al. 2011)。我々は、モデルラン藻である *Synechococcus elongatus* PCC 7942 から FFA 放出株を作製し、その生産性の向上に取り組んでいる。実用化に向けた目標数値として、FFA の放出速度は  $3 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 、細胞乾燥重量あたりの FFA 生産量は  $4 \text{ g FFA g}^{-1} \text{ DCW}$  を設定した。

#### [結果]

野生株由来の FFA 生産株 (dAS1T) の FFA 放出速度はわずか  $0.35 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  であったが、細胞内外の FFA 量を合わせた FFA の総生産速度は  $1.8 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  であった。このことは、dAS1T では細胞内の FFA の生産速度が FFA の放出速度よりも速く、FFA が細胞内に蓄積していることを示している。そこで、細胞外への FFA の受動拡散を促進するために有機溶媒を利用した二相培養系を構築した。すると、dAS1T の FFA 放出速度は培養期間全体の平均値で  $1.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 、最大値では  $3.1 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  にまで増加し、目標値に大きく近付いた。一方で、細胞乾燥重量 (DCW) あたりの FFA 放出量は  $0.36 \text{ g FFA g}^{-1} \text{ DCW}$  に留まり、目標値の 10 分の 1 以下であった。そこで FFA 生産の間の細胞増殖を抑制するために、高親和性の硝酸イオン/亜硝酸イオン輸送体 (NRT) の欠損株から FFA 生産株 (dAS2T) を作製した。NRT の欠損株は硝酸イオンを唯一の窒素源とする培地で培養した場合、野生株に比べて増殖速度が減少する (Maeda and Omata 1997)。実際に脂肪酸生産株である dAS2T でも、対照株である dAS1T と比べて硝酸培地における細胞の増殖速度が低下した。しかしながら、同時に FFA の放出量も dAS1T の数分の一に減少してしまった。そこで *S. elongatus* がもつ内在性の RND 型 FFA 排出ポンプである RND1 を dAS2T で過剰発現させたところ、FFA の放出量のみが dAS1T と同程度に回復し、細胞乾燥重量とほぼ等量の FFA が細胞外に放出された。このように、本研究では FFA 生産と細胞増殖とを脱共役させることに成功し、ラン藻の FFA 生産性を先行研究の数倍以上に向上させた。

biofuel production, cyanobacteria, photosynthesis

発表責任者：小俣達男 (omata@agr.nagoya-u.ac.jp)