

発表番号：3A044

発表日時：3月29日 14:15~15:15、発表場所：ポスター会場エリアA

大腸菌の1,3-ブタンジオール高生産に向けた代謝改変

Metabolic engineering for enhanced production of 1,3-butanediol in *Escherichia coli*

○片岡 尚也<sup>1</sup>、VANGNAI Alisa S.<sup>2</sup>、薬師 寿治<sup>1</sup>、加藤 純一<sup>3</sup>、和田 大<sup>4</sup>、横田 篤<sup>4</sup>、松下 一信<sup>1</sup> (1山口大農、<sup>2</sup>チュラロンコン大、<sup>3</sup>広島大院先端物質、<sup>4</sup>北大院農)

○Naoya KATAOKA<sup>1</sup>, Alisa S. VANGNAI<sup>2</sup>, Toshiharu YAKUSHI<sup>1</sup>, Junichi KATO<sup>3</sup>, Masaru WADA<sup>4</sup>, Atsushi YOKOTA<sup>4</sup>, Kazunobu MATSUSHITA<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Yamaguchi Univ., <sup>2</sup>Chulalongkorn Univ., <sup>3</sup>Hiroshima Univ., <sup>4</sup>Hokkaido Univ.)

【目的】1,3-ブタンジオール (1,3-BD) は、産業用ケミカルの原料やβ-ラクタム系抗生物質の重要中間体として広く用いられている炭素数4の光学活性ジオールである。また、合成ゴムの中間体であるブタジエンに容易に化学変換できることから、合成ゴム原料としても注目されている化合物である。我々はこれまでの研究で、*Ralstonia eutropha* の持つポリヒドロキシ酪酸生合成経路と *Clostridium* 属の持つブタノール発酵経路を組み合わせることで1,3-BD合成代謝経路を設計し、大腸菌内で構築することで、グルコースから1,3-BDを生産することに成功している(1, 2)。本研究では、大腸菌での1,3-BD生産の更なる効率化に向けた代謝改変を検討したので報告する。

【方法・結果】我々の設計した1,3-BD合成代謝経路では、1,3-BDは、アセチルCoAを中間代謝物として3段階の還元反応(うち1反応はNADPH、残りの2反応はNAD(P)Hを還元力とする)を経ることで生成される。そのため、生産の効率化の戦略として、アセチルCoA及び還元力供給の強化が有効であると考えられた。PdhRは、ピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHc)をコードする*pdh*オペロンの負の転写制御因子であり、大腸菌の*pdhR*欠損変異株は、アセチルCoA及びNADH供給が増加した表現型を示すことが明らかにされている(3)。そこで、*pdhR*欠損変異株( $\Delta pdhR$ 株)を作製し1,3-BD生産を評価した。その結果 $\Delta pdhR$ 株での1,3-BD収量は、親株と比較して1.24倍に増加した。またその時、 $\Delta pdhR$ 株では、著量のギ酸が副産物として生成していた。大腸菌においてギ酸は、ピルビン酸-ギ酸リアーゼによるピルビン酸のアセチルCoAへの変換時に生成する。そのため、 $\Delta pdhR$ 株では同じ反応を触媒するPDHcを避ける応答、すなわち、NADH生成を弱める代謝制御をしていると考えられた。これは、1,3-BDの高生産にNADH供給の強化が重要でないことを示唆している。そこで、もう一つの還元力であるNADPH供給の強化が1,3-BD生産に及ぼす影響を評価することとした。ギ酸からNADPHを生じるギ酸脱水素酵素(Fdh)をタンパク質工学的に作製し、1,3-BD合成代謝経路と共に $\Delta pdhR$ 株で発現させた。その結果、Fdhの共発現により1,3-BD収量はさらに1.2倍に増加した(親株と比較して1.55倍)。これらの結果は、大腸菌における1,3-BD生産には、アセチルCoA及びNADPH供給の強化が有効であることを示している。

1) Kataoka et al., *J. Biosci. Bioeng.*, **115**(5), 475-480 (2013).

2) Kataoka et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **78**(4), 695-700 (2014).

3) Iwabu et al., 第65回日本生物工学会大会, 2P-093 (2013).

1,3-butanediol, *Escherichia coli*, metabolic engineering

発表責任者：片岡 尚也 (nkataoka@yamaguchi-u.ac.jp)