

講演番号：3A10a03

講演日時、会場：3月29日 09:22～ A校舎10会場

セルロース系バイオマスからの物質生産を可能にしたスーパー麹菌の開発

Genetically engineered *Aspergillus oryzae* coexpressing three types of cellulases

○若井 暁¹、浅井 菜々実¹、山田 亮祐¹、荻野 千秋²、堤 浩子³、秦 洋二³、近藤 昭彦² (1神戸大・自然、²神戸大院・工、³月桂冠・総研)

○Satoshi WAKAI¹, Nanami ASAI¹, Ryosuke YAMADA¹, Chiaki OGINO², Hiroko TSUTSUMI³, Yoji HATA³, Akihiko KONDO² (¹Org. Adv. Sci. Tech., Kobe Univ., ²Grad. Sch. Eng., Kobe Univ., ³Res. Inst., Gekkeikan Sake Co.)

石油資源に替わるエネルギー・化成品原料資源としてセルロース系バイオマスを利用することは急務の課題である。石油資源の枯渇はシェール(ガス・オイル)の利用により軽視されつつあるが、シェールの利用は二酸化炭素排出の問題がある。そのため、二酸化炭素排出の問題を回避できるバイオマスエネルギーの利用が期待されている。しかしながら、バイオマス利用は、頑強なセルロースをどのように糖質まで分解して、容易に物質生産に繋げていくかという問題を抱えている。我々はこれまでに微生物による物質生産の基盤として、デンプンや糖からバイオプラスチックの原料となる乳酸を高濃度に生産する麹菌の創生に成功している。本研究では、これに加えて、麹菌の高いタンパク質分泌能を用いてセルラーゼを生産することでセルロース系バイオマスからの物質生産を可能にしたスーパー麹菌の創生を目指した。

セルロースをグルコースまで効率的に分解するためには、少なくとも三種類のセルラーゼが必要である。セルラーゼの結晶領域を分解するセロビオヒドロラーゼと非結晶部分を分解するエンドグルカナーゼとβグルコシダーゼである。この三種セルラーゼを異なる三つのプロモーターおよびターミネーターと結合し、麹菌の栄養要求性株にマーカー遺伝子とともに同時に形質転換(コトランスフォーメーション)することで、セルロース分解能を有した麹菌の創生に成功した。

三種セルラーゼ遺伝子を一つのDNA断片として繋げて形質転換を行った時、三種セルラーゼが全て染色体上に組換えを起こしていることが確認できた。一方で、三種セルラーゼ遺伝子をバラバラのDNA断片として形質転換した場合、セルラーゼ遺伝子が全て揃った形質転換体を得ることが難しかった。形質転換体の培養上清を用いてセルロース分解試験を行った結果、形質転換に用いた宿主と遺伝子マーカーの違いによって、活性が大きく異なった。活性が最も高いものは600 U/L-medium (30℃、pH 5.0)を示し、低いものでは40 U/L-mediumとなった。定量PCRを用いて染色体上に組み込まれた遺伝子のコピー数を測定した結果、形質転換体の染色体DNA重量当たりのコピー数は、前者の方が10倍多いコピー数を示したことから、前者では、染色体上の複数個所に連結したセルラーゼ遺伝子が導入されていると考えられる。

我々は現在までに組換え麹菌による乳酸の大量生産に成功しており、今回創生したセルラーゼ発現麹菌に当該遺伝子を形質転換することで、セルロース系バイオマスからの物質生産(乳酸)が可能になる。

Aspergillus oryzae, cellulase, biomass