



# Novel High-Efficient Butanol Production from Butyrate by Non-Growing *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564) with Methyl Viologen

静止菌体を用いた酪酸からの新奇な高効率ブタノール生産システムの構築

(JBB, Vol.104, No.3, 238-240, 2007)

田代 幸寛<sup>1</sup>・進藤 秀彰<sup>1</sup>・林 実希<sup>1</sup>・馬場 俊一<sup>1</sup>・小林 元太<sup>2</sup>・園元 謙二<sup>1,3\*</sup>

*Clostridium* 属細菌により発酵生産される (アセトン・ブタノール (ABE) 発酵) 「バイオブタノール」は、ポストバイオエタノールとして現在最も注目されている。ブタノールはイソブレン、イソブテン、ブテンなどのさまざまな化学合成物質の原材料だけでなく、バイオディーゼル燃料のすぐれた添加剤としても利用可能であり、その用途も非常に幅広い。ABE 発酵はヘテロ型嫌気発酵であり、菌の状態によって代謝物が大きく変化する複雑かつ特異な代謝経路を有している<sup>2)</sup>。すなわち、対数増殖期は酸生成期 (酢酸, 酪酸) であるが、定常期ではソルベント生成期となって有機酸を再同化してソルベント (アセトン, ブタノール, エタノール) を生成する。しかし、代謝の特質によりブタノール収率が低いことが大きな問題点として挙げられる。グルコースを基質とした場合、解糖経路で生成されたピルビン酸が酸化脱炭酸されてアセチル CoA となる際に、1 mol のグルコースから 2 mol の炭素原子が CO<sub>2</sub> として放出される。すなわち、代謝工学や遺伝子工学的手法によりホモブタノール発酵化が可能であっても、最大ブタノール対炭素源収率は 0.667 mol/mol である。実際には、前述した代謝産物の副産物に加え菌体が生産されるために、ブタノール対炭素源収率は 0.5 mol/mol 以下まで減少する。

一方、ABE 発酵における中間代謝物である酪酸を基質とした場合、推定される 2 つの経路 (図 1) のいずれも炭素原子のロスがなく酪酸はブタノールへ変換される<sup>3)</sup>。

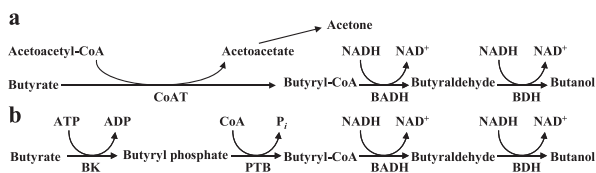


図 1. 酪酸からブタノール変換への経路<sup>3)</sup> CoAT 経路 (a) および酪酸生成逆経路 (b) : CoAT, CoA transferase; BADH, butyraldehyde dehydrogenase; BDH, butanol dehydrogenase; BK, butyrate kinase; PTB, phosphotransbutyrylase.

また、ABE 発酵プロセス (増殖菌体) では、定常期にブタノールが増殖非連動的に生産されることから、静止菌体による生産転換プロセスが考えられる。静止菌体のメリットとして、菌体を再利用できる、操作安定性のすぐれた生産システムが構築できる、菌体増殖に伴う副産物の生産量が小さいなどが挙げられる。すでに、著者らは増殖菌体による酪酸を基質とした pH-stat 流加培養によるブタノール生産システムの構築に成功しているが<sup>4)</sup>、静止菌体を用いた酪酸からのブタノール生産に関する報告はない。そこで本論文では、*C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 株 (N1-4 株) の静止菌体によるブタノール生産の高効率化を検討した。

窒素源の無添加のリン酸培地で N1-4 株を懸濁したところ、菌体増殖が起きずに静止菌体を得られた。ところが、増殖菌体と同じように<sup>4)</sup>、酪酸のみからブタノールは生産されず、グルコースの共添加によりブタノールが生産された。よって、グルコースは還元力 NADH などの補酵素の再生系に利用されることが示唆された (図 1)。また、増殖菌体と比較して、副産物 (アセトン, エタノール) の生成が抑制された。さらに、4 種類の電子供与体の選択および濃度の最適化を行ったところ、0.1 mM Methyl Viologen の添加により、最大理論ブタノール対炭素源収率を超える 0.671 mol/mol を世界で初めて達成した。

本論文では生物化学工学的手法によるブタノール生産の高効率化に成功したが、静止菌体は高密度化も可能であり、高密度静止菌体を用いたブタノール生産の高速化も可能であると考えられる<sup>5)</sup>。

- 1) Edward, C. *et al.*: *Process Biochem.*, **37**, 65 (2001).
- 2) Jones, D. T. and Woods, D. R.: *Microbiol. Rev.*, **50**, 484 (1986).
- 3) Shinto, H. *et al.*: *J. Biotechnol.*, **131**, 45 (2007).
- 4) Tashiro, Y. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **98**, 263 (2004).
- 5) 馬場ら: 日本生物工学会大会講演要旨集, p.217 (2007).

\* 著者紹介 <sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院 (教授) E-mail: sonomoto@agr.kyushu-u.ac.jp

<sup>2</sup>佐賀大学有明海総合研究プロジェクト, <sup>3</sup>九州大学バイオアーキテクチャーセンター