

## 疎水性物質生産の場としての二相培養系

滝口 昇

バイオプロセスは、物質生産におけるエネルギー負荷の低さや、立体位置選択性の高さが大きな特徴となっており、高度にスマート化された合成化学プロセス（グリーンケミストリー）と共に、持続可能な社会の実現に向けて物質生産の中心的な役割を担うことが期待されている。しかしながら、基質（前駆物質）や生産物となる疎水性物質（特に芳香族炭化水素）の生物毒性のため、バイオプロセスにより疎水性物質を生産することは困難とされてきた。たとえば6,6-ナイロンやポリエチレンテレフタレートの中間体として有名なトルエンは、ほとんどの微生物に対して高い毒性を発揮することが知られており、またごく低濃度の反応生成物でも微生物を被毒することがあると言われている。そのため、有機溶媒耐性微生物を用いた疎水性物質生産の試みが数多く研究されているが、たとえ有機溶媒耐性微生物を用いるとしても、基質と生産物質の濃度をできる限り低く抑えることが望まれる。このことは微生物による物質生産では、疎水性物質の生産性を高め、工業化を実現することが困難であることを意味する。この課題の解決策として注目を集めている方法の1つに二相培養系がある。

二相培養系とは、微生物培養のための水相の他に、有機溶媒からなる有機相を設けた培養系のことである。一般的に疎水性前駆物質は有機相側から間接的に水相側に供給され、疎水性生産物質は水相側から有機相側へ抽出される。これにより水相側における疎水性物質の濃度を低くすることが可能となり、疎水性物質の毒性による増殖および生産阻害の抑制が期待される<sup>1)</sup>。二相培養系には、有機相と水相がともに液相からなる液液二相培養系と有機相が固相となる固液二相培養系があり、液液二相培養系においては、3-メチルカテコールやベンジルアルコール、コレステロンなどの生産について研究が進められている。二相培養系が水相のみを用いた培養系よりも効果的に疎水性物質生産を行えることはすでにいくつか報告されている。たとえばPrpichとDaugulisは3-メチルカテコール生産において最終的な生産物濃度が925 mg/lから5494 mg/lに向上したと報告している<sup>2)</sup>。Hüskenらは二相培養系のモデル生産物質である3-メチルカテコールの高分子化はその水相側濃度の高さに関係すること、有機相（オクタノール）が3-メチルカテコールの安定化に寄与していることを報告している<sup>3)</sup>。他の有機相においても一般的に成立するとは言えないが、有機相が生産物の保護に役立つ可能性が示されている。また、二相

培養系の環境が溶媒耐性菌以外の雑菌にとっては生育困難であるため、雑菌汚染のリスクが小さいこと、抽出剤（有機相）を再生できることもあり、プロセスコストを低く抑えることができること、といった利点も考えられる。

一方、二相培養系の課題としてまずあげられるのが、危険性の高さである。二相培養系では有機溶媒を多用するため、作業者の健康に対する有害性と火災、爆発の危険性が指摘されている。これは、従来のバイオプロセスには存在しなかったデメリットである。次に使用可能菌株の少なさがある。有機溶媒は一般的に微生物に対して毒性を持つため、前述のように二相培養系には有機溶媒耐性微生物が用いられる。有機溶媒耐性を有する微生物で物質生産に利用可能なものはまだそれほど多く取得されているわけではなく、また必ずしも目的の物質を作るとは限らない。さらに通気かく拌によって発生する被毒も無視することができない。好気培養系では、酸素供給のために通気かく拌が必要となるが、特に、オキシゲナーゼを利用した反応の場合には、酸素転移速度が生産速度の律速となることがあると言われており、酸素供給が非常に重要である。しかしながら、二相培養系において通気かく拌を行うと二相がエマルジョン状態で混合され、有機溶媒粒子との接触による微生物へのダメージが生ずる可能性が高い。有機溶媒耐性微生物であっても有機溶媒粒子との接触による被毒は避けられず、生産性に影響を及ぼす。そのためHüskenらのホローファイバーメンブレンフィルターを利用した培養系<sup>4)</sup>やPrpichらの固体高分子による固液二相培養系<sup>2)</sup>といった、物理的に有機溶媒と微生物の接触をさける方法も研究されている。しかしながら固相からの生産物回収や装置のメンテナンスの問題など、それぞれに欠点も存在する。

以上、二相培養系について概略を述べてきた。今後、この分野の研究がさらに進むことで、工業的なバイオプロダクションの範囲が、疎水性物質生産へと拡大されていく事を期待している。

- 1) Heipieper, H. J. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **74**, 961 (2007).
- 2) Prpich, G. P. and Daugulis, A. J.: *Biotechnol. Bioeng.*, **98**, 1008 (2007).
- 3) Hüsken, L. E. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **55**, 571 (2001).
- 4) Hüsken, L. E. *et al.*: *J. Biotechnol.*, **96**, 281 (2002).