



High acetone-butanol-ethanol production in pH-stat co-feeding of acetate and glucose

酢酸とグルコースを用いたpH-stat流加培養による
高効率アセトン-ブタノール-エタノール生産

(JBB, Vol. 122, No. 2, 176-182, 2016)

Ming Gao^{1,2}・田代 幸寛¹・Qunhui Wang²・酒井 謙二¹・園元 謙二^{1*}

バイオマスを原料としてアセトン-ブタノール-エタノール (ABE) 生産 *Clostridium* 属細菌によって発酵生産されるバイオブタノールは、次世代バイオ燃料として着目されており、バイオエタノールより優れた燃料特性を有する¹⁾。ABE発酵は、まず糖類から乳酸、酢酸、酪酸などの有機酸が主に形成され(酸生成期)、その後、それらが再利用されて溶剤が生産される(溶剤生成期)という複雑な代謝を示す。筆者らは、この代謝転換を逆に活用して、これら有機酸をサルベージ合成によって、少ない糖消費でも高収率・高効率なブタノール生産が可能な生産システム構築の研究を展開している²⁾。

現在までに、酪酸³⁾および乳酸⁴⁾からの効率的ブタノール生産プロセスを開発した。さらに、希硫酸法を用いたバイオマスの前処理プロセスなどにより容易に得られる酢酸からのブタノール生産を検討した。*Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4株による[1,2-¹³C₂]-酢酸トレーサー実験を行い、酸生成期でも62%もの酢酸の炭素原子がブタノールに変換(溶剤生成期では68%)されることを直接証明し(アセトンへはそれぞれ

の生成期で37%, 28%), 酢酸によるABE生産の促進効果を確認した⁵⁾。一方、①*C. saccharoperbutylacetonicum* 種における酢酸によるABE生産の促進機構は不明であること、②その効率的な生産プロセスは開発されていないこと、が依然課題であった。そこで本論文では、関連酵素活性測定による代謝機構の解明、および酢酸利用による高効率ABE生産プロセスの構築を目指した。

グルコース (G) のみ、およびグルコース+酢酸 (GA) でそれぞれ培養したN1-4株の5つの代謝酵素活性を酸生成期、および溶剤生成期で測定し、GとGAを比較した(図1)。その結果、酢酸添加により、溶剤生成期の開始が早まること、および、CoA-T経路による酢酸消費経路とブタノール・アセトン生成経路の代謝酵素活性の上昇によるABE生産促進機構を酵素活性レベルで明らかにした。

また、酢酸添加によるABE生産促進は溶剤生成期の初期のみならず酸生成期でも有効であることを確認した。さらに、高濃度酢酸による発酵阻害を回避するために、種々の流加培養法を検討した結果、pHを指標に共基質をフィードするpH-stat流加培養によって最大のABE生産(ブタノール濃度、約15 g/L; ABE濃度、約24 g/L; 酢酸/グルコース消費比、0.09 C-mol/C-mol)を達成し、既報の酢酸からのABE生産プロセスを凌駕した。

本論文では、酵素工学・発酵工学研究を展開し、N1-4株の酢酸添加によるABE生産の促進機構を解明するとともに、酢酸を基質とした世界最高の高効率ABE生産プロセスの構築に成功した。

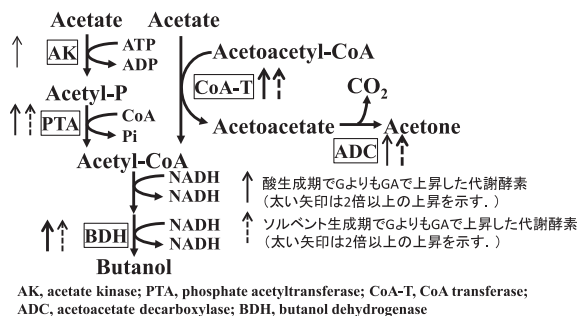


図1. サルベージ合成能を利用した酢酸からのブタノール・アセトン変換経路および関連酵素活性の変化

- 1) 田代幸寛: 生物工程, **93**, 130 (2015).
- 2) 園元謙二: 生物工程, **95**, 2 (2017).
- 3) Tashiro, Y. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **98**, 263 (2004).
- 4) Yoshida, M. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **114**, 526 (2012).
- 5) Gao, M. et al.: *RSC Adv.*, **5**, 8486 (2015).

* 著者紹介 九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門 (教授) E-mail: sonomoto@agr.kyushu-u.ac.jp
¹九州大学, ²University of Science and Technology Beijing, 中国