

助成年度：平成 23 年度

[所属] 愛媛大学 農学部

[役職] 准教授

[氏名] 渡辺 誠也

[課題]

酒造酵母による究極的バイオ燃料生産

[内容]

ETBE (エチルターシャリーブチルエーテル) の原料であるエタノールとイソブテンをサッカロミセス酵母 (酒造酵母) により同時生産させることを目的とした。イソブテン生合成系として2つの経路に注目した。1つ目は、イソプレノイド生合成経路のジフォスホメバロン酸脱炭酸酵素 (ERG19) の基質特異性を改変し、3-Hydroxy-3-methylbutyrate (3HMB) を基質とした脱炭酸反応でイソブデンを作るもの (経路1)、2つ目はトルラ酵母 *Rhodotorula minuta* で見られるロイシン生分解経路の2-オキシイソカプロン酸から脱炭酸・脱水素反応によって生じるイソ吉相酸からチトクロム P450 (Cyt P450) の脱炭酸反応によりイソブテンが生じるものである (経路2)。

経路1を導入した組み換え酵母は、1mM 3HMBを培地に添加し好氣的に培養すると、6時間後に 20ppm/h/g of cellsのイソブテンを気相中に生産した。3HMB濃度を2~10mMと上昇させると、10mMの時に最大98ppm/h/g of cellsの生産性が見られた。3HMBへの親和性を上げる目的で、74番目のアルギニンヒスチジン置換した変異型遺伝子ERG19_{R74H}を作成した。野生型遺伝子ERG19_{WT}を用いた場合に比べて、3HMB濃度1mMの時に約5倍のイソブデンが生産された。また、五炭糖キシロースの代謝遺伝子群を導入することで、グルコースからだけでなくキシロースからもイソブテンが生産された。

経路2については、Cyp P450 と2-オキシイソカプロン酸の脱炭酸・脱水素反応を行うARO10 (α -ケト酸脱炭酸酵素) とALDH4 遺伝子 (アルデヒド脱水素酵素) も構成的に発現させた酵母を作出した。しかし、ロイシンやイソ吉相酸を添加した培地で好氣的に培養したが、イソブテン生産は確認できなかった。