

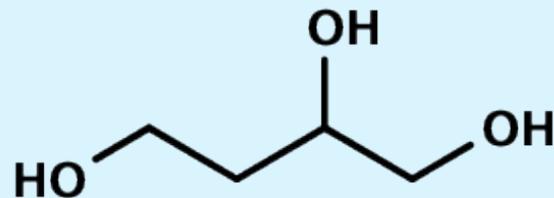
酵母での鉄代謝機構改変による 医薬・化成品原料等のバイオ生産

神戸大学 先端バイオ工学研究センター
センター長・教授 蓮沼 誠久

令和2年10月15日

新技術の概要

酵母におけるブタントリオール生産のボトルネックが鉄硫黄タンパク質による酵素反応であることを見出し、鉄代謝機構を改変することで当該酵素の活性を6倍向上させることができた。この手法を用いることで世界最高濃度でのブタントリオール生産に成功し、さらに廃棄物系バイオマス(稲わら)からの生産も実現した。

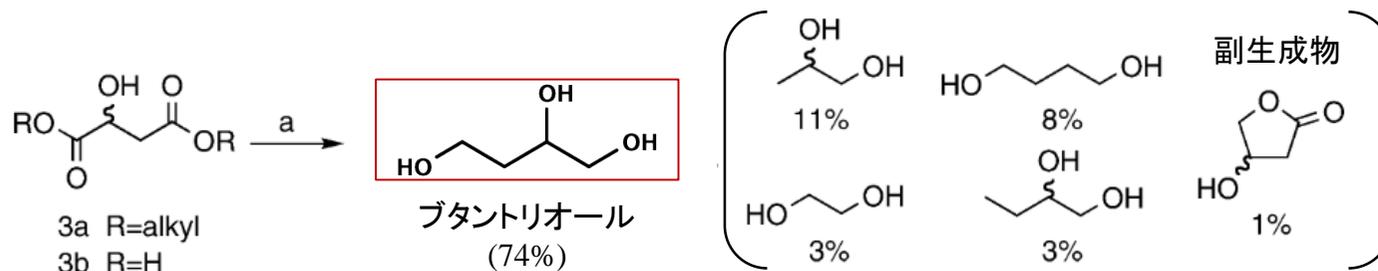


1,2,4-ブタントリオール

- ・医薬品原料
- ・バイオポリマー合成原料
- ・ロケットの推進剤合成原料
- ・可塑剤

従来技術とその問題点

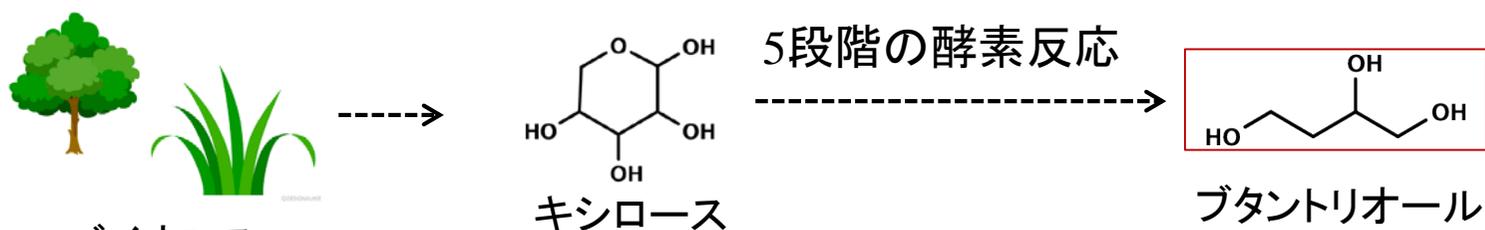
従来技術1) 石油由来マレイン酸エステルの還元反応による生産



^a Reaction conditions: 5000 psi H₂, Ru on C, 135 °C, H₂O.

問題点 高圧(3.5 Mpa), 高温(135°C), 高価な触媒(Ru触媒)が必要。
また、複数の副生成物の生成による収率の低下や精製コストの増加が課題

従来技術2) バクテリア(大腸菌)による発酵生産



穏和な反応条件(30~37度, 常圧)で、副生成物も少ない

問題点 大腸菌は、バイオマス原料に含まれる酢酸やフルフラール等の発酵阻害物への耐性が低く、バイオマス原料を直接発酵に用いることが困難でコストが嵩む。

→ 発酵阻害物に対する耐性が強く工業スケールでの発酵生産の実績もある出芽酵母宿主としたブタントリオール生産菌を開発。

従来技術・競合技術との比較

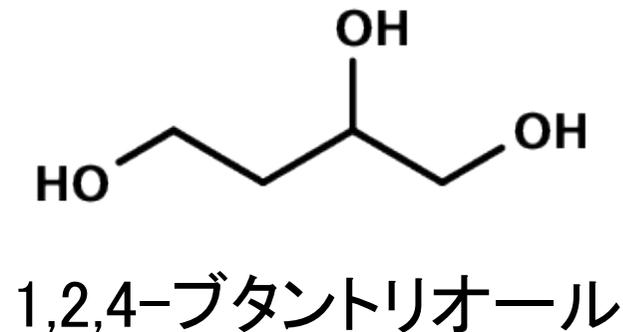
本研究のブレイクスルーは、従来困難であった鉄硫黄タンパク質の機能発現（活性を持った状態で発現させること）である。これにより、先行研究よりも高濃度の高付加価値物質生産につながった。加えて、バイオマスを原料にした発酵生産を実現した点も特筆に値する。

糖をブタントリオールに変換するのに必要な鉄硫黄タンパク質の高活性化が、高生産のための課題

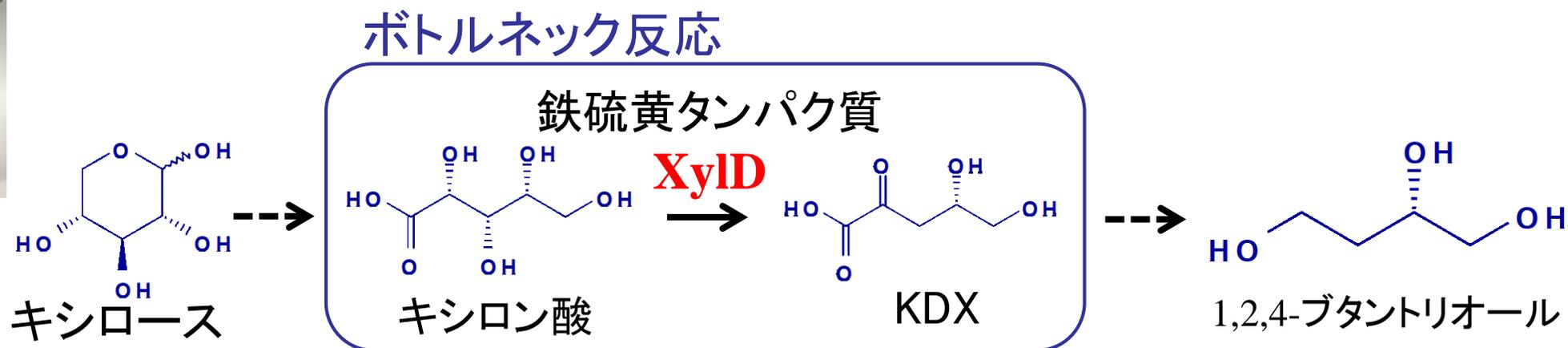


稲藁水熱処理物

遺伝子組換え
出芽酵母



新技術の内容



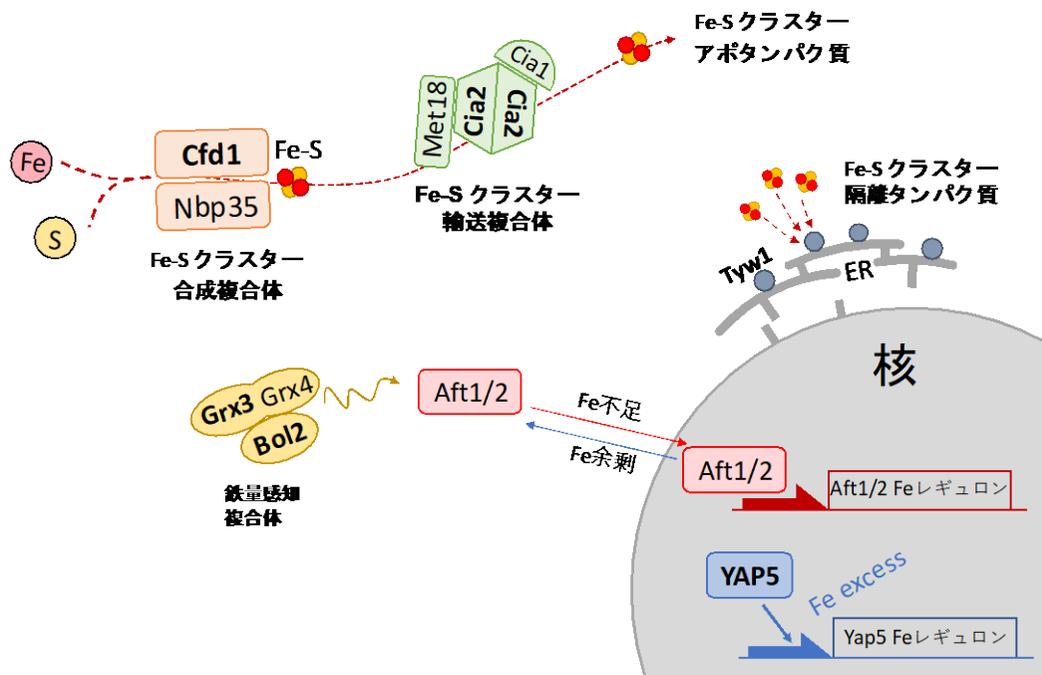
XyIDは鉄硫黄 (FeS) タンパク質で、FeSクラスターが活性に必要である。酵母において、FeS クラスターを持つバクテリア由来の酵素の多くは十分に活性を持たないことが報告されている。

Fe-Sクラスターの不足が低活性の原因？



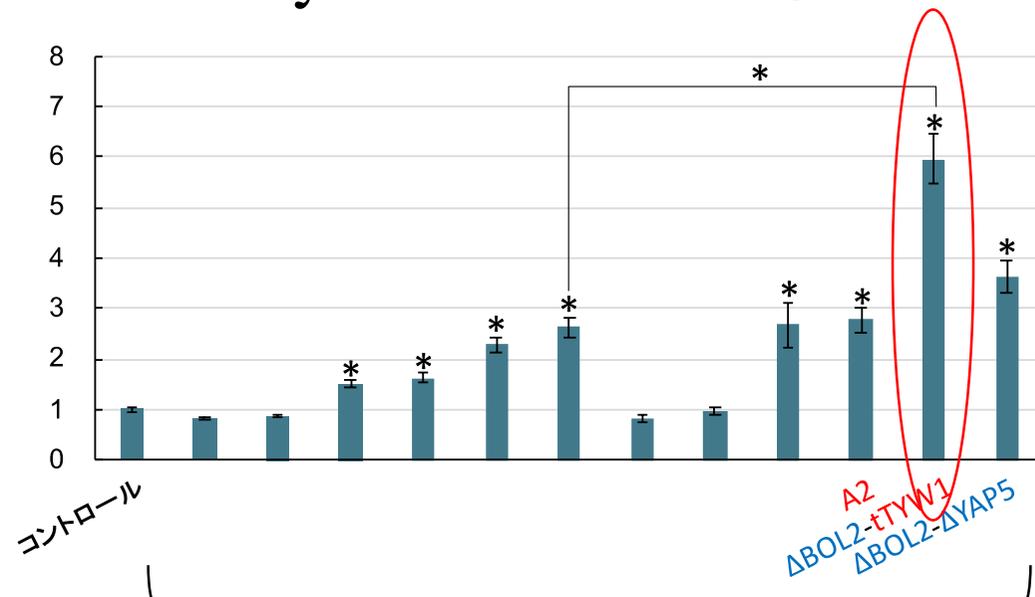
酵母の鉄代謝機構の改変により、
FeSクラスターの合成を促進させることにより解決

新技術の内容



酵母の鉄代謝機構

Xyl1D活性測定結果



赤字; 過剰発現
青字; 欠損

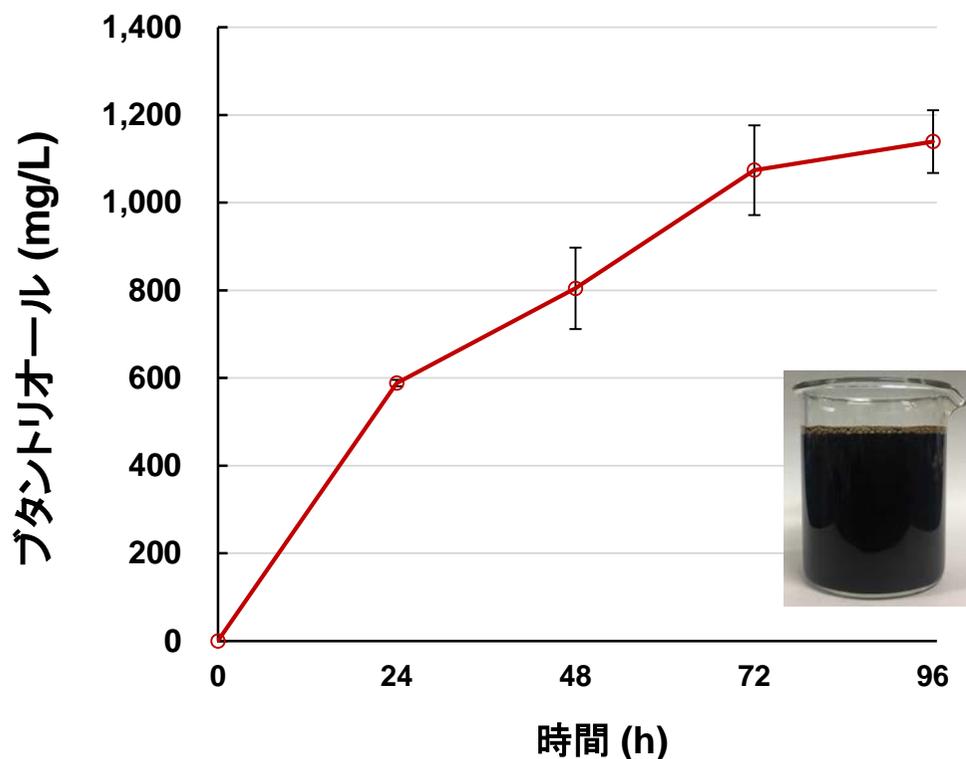
鉄代謝改変株

鉄硫黄クラスタースター合成タンパク質、鉄硫黄クラスタースター輸送タンパク質、細胞内の鉄の量を制御するタンパク質、の3つをターゲットに選定して組換えを行った。

→鉄イオンの取り込み量が向上する組換えを行った株で、鉄硫黄タンパク質(Xyl1D)の酵素活性が最大6倍向上

新技術の内容

稲藁水熱処理物を用いた
ブタントリオール生産試験



稲藁水熱処理物に含まれる
発酵阻害物および糖の量

発酵阻害物	濃度 (g/L)
酢酸	2.43
ギ酸	1.04
フルフラール	0.29
バニリン	0.09
5-HMF	0.03
シリングアルデヒド	0.02

糖	濃度 (g/L)
グルコース	11.5
キシロース	15.7

鉄代謝改変を含むブタントリオール生産に有益な代謝改変を全て施した酵母株は、
稲わらの水熱処理物を基質とする発酵試験で、1.1 g/LのBTを生産することができた。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 鉄の代謝機構を改変する技術を開発したこと
- 医薬品・化成品原料として有用なブタントリオールの高生産技術を開発したこと
- 持続可能な資源であるバイオマスからの物質生産プロセスを開発したこと

想定される用途

- バイオプロセスによる有用物質生産
- バイオマスからのサステイナブルな物質生産
- 鉄代謝改変を必要とする様々な有用物質生産プロセスへの展開

実用化に向けた課題

- ・代謝改変による生産経路の最適化によるブタントリオール生産量の更なる向上
- ・培養条件や培地の最適化
(小型バイオリアクターでの合成培地を用いたフェドバッチ培養では、6.6 g/L (対糖収率50%以上)でのブタントリオール生産を達成)

企業への期待

- 実用化に向けた、パイロットスケールでの発酵試験によるデータ取得
- 鉄硫黄タンパク質の高活性化技術の、ブタントリオール以外の有用化合物生産への展開

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 組換え宿主細胞及びD-ブタントリオールの新規製造方法
- 出願番号 : 特願2020-500452
- 出願人 : 神戸大学
- 発明者 : 蓮沼誠久、近藤昭彦、番場崇弘

産学連携の経歴

- 2011年-2014年 JSTさきがけ事業に採択
- 2012年-2016年 NEDOバイオマスエネルギー技術開発事業に採択
- 2016年-2019年 内閣府ImPACT事業に採択
- 2016年-2020年 JST A-STEP事業に採択
- 2016年- NEDOスマートセルプロジェクトに採択
- 2018年- 大学発ベンチャーAlgae Nexus設立
- 2019年- JST未来社会創造事業に採択

お問い合わせ先

神戸大学

産官学連携本部 産学連携・知財部門

TEL 078 - 803 - 5945

FAX 078 - 803 - 5389

e-mail : oacis-sodan@office.kobe-u.ac.jp