

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		代謝改変酵母による有用物質生産性の向上に向けた培養工学的アプローチ			
研究テーマ (欧文) AZ		Value-added chemicals production by metabolically engineered yeast			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓)ヤマダ	名)リョウスケ	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	山田	亮祐	報告年度 YR	2017年
	ローマ字 CZ	YAMADA	RYOSUKE	研究機関名	大阪府立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		大阪府立大学大学院工学研究科・テニユアトラック助教			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>【緒言】</p> <p>近年、石油資源の枯渇や種々の環境問題を背景に酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> を用いることで、再生可能な植物バイオマス由来のグルコースから D-乳酸や 2,3-ブタンジオール (2,3-BDO) など様々な有用物質を生産することが期待されている。</p> <p>本研究では、既往の研究で開発したグローバル代謝改変技術を応用することで、D-乳酸および 2,3-BDO を効率よく生産する酵母を作製することを試みた。また、エアリフトバイオリアクターを用い、アルギン酸ゲル包括酵母や凝集性酵母による D-乳酸および 2,3-BDO の連続生産を試みた</p> <p>【方法および結果】</p> <p>酵母 <i>S. cerevisiae</i> YPH499 に <i>Leuconostoc mesenteroides</i> 由来の D-LDH を含む D-乳酸生産関連酵素を最適な割合で発現することで D-乳酸生産酵母を作製した。また、酵母 <i>S. cerevisiae</i> YPH499 に <i>Bacillus subtilis</i> および <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 由来の 2,3-BDO 生産遺伝子を含む 2,3-BDO 生産関連遺伝子を最適な割合で発現することで 2,3-BDO 生産酵母を作製した。作製した各酵母をアルギン酸ゲルによる固定化または凝集性付与による固定化を行い、エアリフトバイオリアクターによる D-乳酸および 2,3-BDO の連続生産を行った。</p> <p>アルギン酸ゲル包括酵母による D-乳酸の連続生産において、希釈率 0.060 /h から 0.090 /h の範囲で 100 時間以上安定的に乳酸を生産することに成功した。希釈率 0.09 /h のとき、平均して 14.5 g/L の乳酸を生産した (乳酸収率 0.13)。</p> <p>凝集性固定化酵母による 2,3-BDO の連続生産において、希釈率 0.065 /h から 0.20 /h の範囲で 400 時間以上安定的に 2,3-BDO を生産することに成功した。希釈率 0.20 /h のとき、平均して 38.4 g/L の 2,3-BDO を生産した (2,3-BDO 収率 0.51)。</p> <p>以上より、エアリフトバイオリアクターを用いた高効率な D-乳酸および 2,3-BDO の生産に成功した。</p>					
キーワード FA	乳酸	2,3-ブタンジオール	酵母	発酵	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Enhanced D-lactic acid production by recombinant <i>Saccharomyces cerevisiae</i> following optimization of the global metabolic pathway							
	著者名 ^{GA}	Yamada, R., Wakita, K., Mitsui, R., Ogino, H.	雑誌名 ^{GC}	Biotechnology and Bioengineering					
	ページ ^{GF}	2075~2084	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	114
雑誌	論文標題 ^{GB}	Efficient production of 2,3-butanediol by recombinant <i>Saccharomyces cerevisiae</i> through modulation of gene expression by cocktail δ -integration							
	著者名 ^{GA}	Yamada, R., Wakita, K., Mitsui, R., Nishikawa, R., Ogino, H.	雑誌名 ^{GC}	Bioresource Technology					
	ページ ^{GF}	1558~1566	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	245
雑誌	論文標題 ^{GB}	Rapid and stable production of 2,3-butanediol by an engineered <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain in a continuous airlift bioreactor							
	著者名 ^{GA}	Yamada, R., Nishikawa, R., Wakita, K., Ogino, H.	雑誌名 ^{GC}	Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology					
	ページ ^{GF}	305~311	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	45
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

[Introduction]

Recently, yeast *Saccharomyces cerevisiae* is recognized as promising microorganisms to realize efficient production of useful chemicals such as D-lactic acid and 2,3-butanediol (2,3-BDO) from renewable resources like plant biomass.

In this study, we attempted to construct yeasts that efficiently produce D-lactic acid or 2,3-BDO by using the previously developed global metabolic remodeling technology. We also attempted continuous production of D-lactic acid and 2,3-BDO by alginate encapsulated yeast and flocculent yeast using an airlift bioreactor.

[Method and Result]

D-lactic acid-producing yeast was constructed by expressing D-lactic acid production-related enzyme containing D-LDH derived from *Leuconostoc mesenteroides* in yeast *S. cerevisiae* YPH 499 at an optimal ratio. In addition, 2,3-BDO producing yeast was constructed by expressing 2,3-BDO production-related gene containing 2,3-BDO producing gene derived from *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* in yeast *S. cerevisiae* YPH 499 at an optimum ratio. Each constructed yeast was immobilized by sodium alginate or immobilized by flocculation, and continuous production of D-lactic acid and 2,3-BDO by an air lift bioreactor was carried out.

In the continuous production of D-lactic acid by alginate encapsulated yeast, stable D-lactic acid production was achieved for more than 100 hours at a dilution rate of 0.060 /h to 0.090 /h. When the dilution rate was 0.09 /h, D-lactic acid was produced on average 14.5 g/L (0.13 of the yield).

In continuous production of 2,3-BDO by flocculent yeast, stable 2,3-BDO production was achieved for more than 400 hours at a dilution rate of 0.065 /h to 0.20 /h. When the dilution ratio was 0.20 /h, 2,3-BDO was produced on average 38.4 g / L (0.51 of the yield).

Consequently, we succeeded in producing highly efficient D-lactic acid and 2,3-BDO using an airlift bioreactor.