

「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」

H27 年度
実績報告書

平成23年度採択研究代表者

小俣 達男

名古屋大学大学院生命農学研究科
教授

ラン藻の硝酸同化系変異株を利用した遊離脂肪酸の高効率生産系の構築

§ 1. 研究実施体制

(1)「小俣」グループ(名古屋大学)

- ① 研究代表者:小俣 達男 (名古屋大学大学院生命農学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・*Synechococcus elongatus* PCC 7942 からの脂肪酸放出株の作製と改良
 - ・ラン藻の脂肪酸生産株のトランスクリプトーム解析

(2)「愛知」グループ(中部大学)

- ① 主たる共同研究者:愛知 真木子 (中部大学応用生物学部応用生物化学科、講師)
- ② 研究項目
 - ・遊離脂肪酸の生産・放出に関わる変異株の同定と単離
 - ・有用遺伝子変異のマーカーレス形質転換導入

(3)「池田」グループ(理化学研究所)

- ①主たる共同研究者:池田 和貴 (理化学研究所統合生命医科学研究センターメタボローム研究チーム、上級研究員)
- ② 研究項目
 - ・ラン藻の脂肪酸生産株の脂質メタボローム解析

(4)「若山」グループ(慶應義塾大学)

- ①主たる共同研究者:若山 正隆 (慶應義塾大学先端生命科学研究所、特任助教)
- ② 研究項目

・主要代謝中間体のメタボローム解析と遺伝学的アプローチによる脂肪酸生産性の向上

§ 2. 研究実施の概要

本研究チームは、ラン藻(シアノバクテリア)を用いて、バイオ燃料の材料となる遊離脂肪酸(FFA)を大量生産することを目指している。このような研究では従来、燃料となる物質を細胞内部に蓄積させるのが一般的であったが、この方式では大量生産のために「容れ物」である細胞も大量につくる必要があり、生産コストの削減が困難である。そこで、本研究では、細胞の内部に目的生産物を貯めるのではなく、細胞をなるべく増やさずに FFA を外部に継続的に放出させることで、生産コストの引き下げを目指している。

本来、脂肪酸のほとんどは膜脂質の構成部品として存在しており、脂肪酸部分だけが遊離してできる FFA は微量しか存在しないが、先行研究によって、遊離した FFA を膜脂質に付け直すリサイクル過程を阻害することで有意な量の FFA を生産する基本的な方法が開発されていた。我々はこの方法による FFA 生産速度を、大幅に向上するため、平成 24~25 年には様々な遺伝子操作による品種改良を試みたが、作出した FFA 高生産株は不安定で死滅しやすく、扱いが大変難しいものであった。また、「高生産株」といっても、その生産速度は十分なものではなかった。この原因を解明するため、平成 26 年度に様々な角度から再検討を行い、①膜脂質からの FFA の切り出しが強光によって促進されること、②ラン藻の一種である *Synechococcus elongatus* は FFA を細胞内に高濃度に蓄積することができるが、ある限界を超えると光合成系が破壊されて死滅すること、③ラン藻は FFA を細胞の外へと積極的に排出するためのトランスポーターを持っていること、を明らかにした。本年度はこれらの現象についてさらに解析し、強光条件下では FFA が光合成において水分子の分解を担っている光化学系 II を不安定化すること(論文 1)、および FFA の排出型トランスポーターを過剰発現することで FFA の蓄積による害を軽減することができること(論文 2)を見いだした。さらに、FFA の生産速度を上げすぎると FFA の放出が追いつかなくなり、細胞内に溜まった FFA が光合成を阻害し、細胞死を引き起こすことがわかったので、FFA の合成と放出のバランスを改善することで、FFA の生産速度を大幅に向上させることに成功した(論文 3)。ただし、生産した FFA の大半はまだ細胞内にとどまっていたことから、FFA の細胞からの放出速度をさらに高める方法を検討した。その結果、効率良く FFA を細胞外に放出させる方法を見出すことが出来た。

主な原著論文

1. Takatani N, Use K, Kato A, Ikeda K, Kojima K, Aichi M, Maeda S, Omata T (2015) Essential role of acyl-ACP synthetase in acclimation of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* strain PCC 7942 to high-light conditions. *Plant and Cell Physiology* 56 (8): 1608-1615.
2. Kato A, Takatani N, Use K, Uesaka K, Ikeda K, Chang Y, Kojima K, Aichi M, Ihara K, Nakahigashi K, Maeda S, Omata T (2015) Identification of a cyanobacterial RND-type efflux system involved in export of free fatty acids. *Plant and Cell Physiology* 56 (12): 2467-2477.
3. Kato A, Use K, Takatani N, Ikeda K, Matsuura M, Kojima K, Aichi M, Maeda S, Omata T (2016) Modulation of the balance of fatty acid production and secretion is

crucial for enhancement of growth and productivity of the engineered mutant of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Biotechnology for Biofuels* 9:91