

未来社会創造事業 探索加速型
「地球規模課題である低炭素社会の実現」領域
年次報告書(探索研究期間)

令和3年度 研究開発年次報告書

平成 30 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：中島田 豊]

[広島大学大学院統合生命科学研究科・教授]

[研究開発課題名：再生可能エネルギーを活用した有用物質高生産微生物デザイン]

実施期間：令和3年4月1日～令和4年3月31日

§1. 研究開発実施体制

(1)「広島大学」グループ(国立大学法人広島大学)

① 研究開発代表者: 中島 豊 (広島大学大学院統合生命科学研究科、教授)

② 研究項目

Moorella thermoacetica 有用物質生産株のガス基質代謝デザイン : ATCC 株を用いた検証

- ・代謝酸化還元バランス調整の方策立案と検証
- ・ATP 生産強化の戦略立案と検証
- ・ガス発酵における培養工学的最適化
- ・*M. thermoacetica* 遺伝子工学ツールの整備

(2)「産総研」グループ(国立研究開発法人産業技術総合研究所)

① 主たる共同研究者: 村上 克治 (国立研究開発法人産業技術総合研究所 材料・化学領域 機能化学研究部門 バイオ変換グループ、主任研究員)

② 研究項目

多様な有用物質生産への応用可能性実証: *M. thermoacetica* 国産株を用いた検証

- ・合成代謝工学による国産株の分子育種
- ・国産株を活用した *M. thermoacetica* 遺伝子工学ツール整備
- ・蛋白質立体構造モデリングとドッキングシミュレーションによる代謝デザイン支援

§2. 研究開発成果の概要

ガス発酵は、合成ガス、そして再生可能エネルギー由来水素(H_2)と二酸化炭素(CO_2)の資源化を可能とするカーボンリサイクル技術である。本研究では、 H_2 または一酸化炭素(CO)をエネルギー代謝に用い、 CO および CO_2 を炭素源として利用可能な好熱性ホモ酢酸菌 *Moorella thermoacetica* を微生物代謝デザインプラットフォームとして用いた。*M. thermoacetica* は本来酢酸を最終代謝産物とするが、本研究開発では代謝工学により燃料・化成品原料となるバルクケミカルを生産する菌株へと改変、さらに社会実装可能な性能を持つ株を育種する。本年度は、合成ガスよりも代謝的に難度の高い CO_2/H_2 ガスを基質とした $0.5g/L/h$ の速度でエタノール生産することを目標とした。エタノール生産代謝デザインにおける課題は代謝の酸化還元バランスと十分な ATP 供給である。昨年度までに酸化還元バランスを崩さずエタノール生産が可能な代謝デザインを実現するとともに、ATP 供給を担保するための代謝デザインを見出した。本年度はこれらの要素技術を統合したプロセス開発を行った。具体的には、酸化還元バランスの整った還元酵素群を導入した株をベースに、酢酸生成経路破壊により炭素フラックスをエタノール生産に集中させるとともに、異種ヒドロゲナーゼ導入、および嫌気呼吸を活用することにより、 H_2 代謝により獲得する ATP を増大させた。さらに、これらの代謝活性が高い菌体を高濃度で用いることを培養工学的に可能とすることで上記目標以上の高速生産を達成した。また、 C_2 化合物(エタノール)のみならず C_3 、 C_4 化合物をガス発酵により生産する菌株の育種にも成功しターゲットケミカルの多様化も展開した。

【代表的な原著論文情報】

1. Kato, J., Takemura, K., Kato, S., Fujii, T., Wada, K., Iwasaki, Y., Aoi, Y., Matsushika, A., Murakami, K., and Nakashimada, Y. (2021). Metabolic engineering of *Moorella thermoacetica* for thermophilic bioconversion of gaseous substrates to a volatile chemical. *AMB Express* 11, 59. doi:10.1186/s13568-021-01220-w
2. Takemura, K., Kato, J., Kato, S., Fujii, T., Wada, K., Iwasaki, Y., Aoi, Y., Matsushika, A., Murakami, K., and Nakashimada, Y. (2021). Autotrophic growth and ethanol production enabled by diverting acetate flux in the metabolically engineered *Moorella thermoacetica*. *J Biosci Bioeng* 132, 569-574. doi:10.1016/j.jbiosc.2021.08.005
3. Takemura, K., Kato, J., Kato, S., Fujii, T., Wada, K., Iwasaki, Y., Aoi, Y., Matsushika, A., Morita, T., Murakami, K., and Nakashimada, Y. (2021). Enhancing hydrogen-dependent autotrophic growth of the thermophilic acetogen *Moorella Thermoacetica* by supplementation of dimethyl sulfoxide as an electron acceptor. *SSRN* [Preprint]. Available at: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3995298