

環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

藤原 良介

理化学研究所 環境資源科学研究センター
基礎科学特別研究員

CO₂ 由来低分子からの超高収率スチレン生産

研究成果の概要

CO₂ から合成可能なメタノール・エタノールを原料に、*M. extorquens* を宿主として芳香族化合物（スチレン）を高収率で生産する技術の開発を行った。宿主である *M. extorquens* は、元来スチレン生産経路を持たない。そこでフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) 及びフェルラ酸デカルボキシラーゼ (FDC)、プレニル基転移酵素 (PAD) の過剰発現を行い、スチレン生産能を付与した。PAL の候補としては、大腸菌や放線菌でのスチレン生産で実績のあるストレプトマイセス属由来 PAL (SmPAL) を、FDC および PAD の候補には、同様の実績のある酵母由来 FDC (ScFDC) および同由来 PAD (ScPAD) を第一候補とした。*M. extorquens* に対してコドン最適化を行った SmPAL、ScPAD 及び ScFDC 遺伝子を、異なる順序で直列に並べた 6 種のプラスミドを構築し、それぞれ *M. extorquens* に導入した。これらをメタノール最小培地でしたところ、GCMS 定性分析において、スチレンの生産を確認した。

並行して、メタノールからのスチレン収率を向上させるため、競合代謝経路破壊株の構築を行った。低収率の最大の要因は、代謝中間体であるギ酸が CO₂ に酸化されることである。そこで、この反応を触媒するギ酸デヒドロゲナーゼ (Fdh) の破壊を行った。*M. extorquens* は Fdh を 4 つ保有しているため、これら順に破壊し、最終的に 4 重破壊株の作成に成功した。メタノール最小培地において、1 重、2 重、および 3 重破壊株は野生株と同等の増殖能を有していたのに対し、4 重破壊株では顕著に増殖能が低下しており、最高菌体密度は野生株の 10 % 以下であった。一方で、エタノール最小培地では、4 重破壊株は野生株よりも増殖速度および最高菌体密度が向上しており、エタノール炭素源で増殖可能であることが確認された。