

2023 年度年次報告書
環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

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。*M. extorquens* に対してコドン最適化を行ったスチレン生産にかかわる外来遺伝子群であるストレプトマイセス属由来フェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL)、酵母由来フェルラ酸デカルボキシラーゼおよびプレニル基転移酵素を導入した。スチレン生産経路導入株をメタノール最小培地で培養した結果、GCMS 定性分析においてスチレンの生産を確認した。スチレンは揮発性化合物であり定量的な評価が困難であるため前駆体の桂皮酸の生産を検討した結果、メタノール炭素源にて 100 mg/L 以上の桂皮酸を生産することに成功した。

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、競合経路破壊株の構築を行った。低収率の最大要因は代謝中間体のギ酸が CO₂ へ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* が保有する 4 つの Fdh を全て破壊した Δ4 株の作成に成功した。Δ4 株はメタノール最小培地において顕著に増殖能が低下し、最高菌体密度は野生株の 10 % 以下であった。一方、エタノール最小培地では野生株と同等程度の増殖速度および最高菌体密度であった。

さらにエタノールの利用効率向上のため、内在のエタノール資化遺伝子群の過剰発現株を構築した。その結果、アセチル CoA シンセターゼの過剰発現によりエタノール培地において細胞増殖能が顕著に向上し、メタノール-エタノール混合培地においても両基質を同時に資化可能であることが確認した。この結果は混合基質を用いた高収率スチレン（桂皮酸）生産の可能性を示す結果である。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Styrene Production in Genetically Engineered *Escherichia coli* in a Two-Phase Culture. Shuhei Noda, Ryosuke Fujiwara, Yutaro Mori, Mayumi Dainin, Tomokazu Shirai, Akihiko Kondo. *BioTech* 13(1)(2) 2024
- 2) Hydroxybenzoic Acid Production Using Metabolically Engineered *Corynebacterium glutamicum* Misa Doke, Mayumi Kishida, Yuuki Hirata, Mariko Nakano, Mayo Horita, Daisuke Nonaka, Yutaro Mori, Ryosuke Fujiwara, Akihiko Kondo, Shuhei Noda. *Synthetic Biology and Engineering* 1(1) 1-9 2023