

微生物 *R. eutropha* によるポリ(3-ヒドロキシブチレート)の 生合成時のグリセリン炭素源の代謝効率

(龍谷大理工) ○横江洋人, 中沖隆彦

【緒言】微生物 *Ralstonia eutropha*(*R. eutropha*)は細胞内にエネルギー貯蔵物質として poly(3-hydroxybutyrate)(P3HB)を効率よく蓄積できる代表的な微生物である。*R. eutropha* による P3HB 生合成で炭素源としてグリセリンを用いると P3HB 含有率が 30-40%であるのに対し、グルコースなどの炭素源を用いた時の 50-60%と比較して低い値になっている。本研究室ではグリセリンに少量の脂肪酸を加えた混合炭素源では、P3HB の収率が向上することを報告した。¹⁾そこで、本研究では *R. eutropha* による P3HB の生合成時の炭素源であるグリセリンの代謝と蓄積される P3HB との関係について検討した。

【実験】*R. eutropha*(NCIMB 11599)を有機培地中で 32 °C、120 rpm、24 h で振とう培養し、炭素源にグリセリンを用いて窒素、リン制限の条件下で 72 h 振とう培養した。菌体内に蓄積した P3HB はクロロホルムを用いて抽出した。P3HB の収率は乾燥菌体中に含まれている P3HB の重量分率とした。培地中のグリセリン濃度は ¹H NMR 測定により標準試料としてアセトアニリドを用いてグリセリンのピーク強度から求めた。¹H NMR 測定は JEOL-ECA400 を用いた。

【結果と考察】*R. eutropha* による P3HB 生合成時で得られた乾燥菌体重量 (DCW) とポリマー収量の関係を Fig. 1 に示した。DCW とポリマー収量は、ともにグリセリン濃度が 25 mmol/100mL 以上で急激に減少することが確認された。特にポリマー収量はグリセリンが高濃度であるときに小さくなった。これは、菌体がエネルギー貯蔵物質であるグリセリンを代謝する必要がなかったためと考えられる。

次に、この時の培養液中の残留グリセリンの量を ¹H NMR 測定により求めた。菌体に代謝されたグリセリンの量は加えたグリセリンの量から、培養液中に残留しているグリセリンの量との差から求めた。Fig. 2 に菌体内で代謝されたグリセリンの量をグリセリン濃度に対してプロットした。また、参照のために加えたグリセリンの量は点線で示した。菌体内で代謝されるグリセリンの量は培養液中のグリセリンの濃度が上がるとともに単調に増加した。特にグリセリン濃度の低い 10 mmol/100mL 以下では、加えたグリセリンを全て代謝したが、高濃度になると代謝されずに培養液中に残留しているグリセリンの量が多くなった。代謝されたグリセリンの量は加えたグリセリンに対して 20-30%と低かったことから、菌体内に蓄積される P3HB の収率が高くならなかったと考えられる。また、Fig. 1 の P3HB の蓄積量が高濃度のグリセリン中では極めて低くなったが、Fig. 2 で示したように菌体内での代謝は高濃度のグリセリンでも行われていることから、代謝されたグリセリンはエネルギー貯蔵物質として P3HB に変換されるより、運動エネルギーとして消費されたと考えられる。

【参考文献】

- 1) E. A. Dawes, P. J. Senior, *Adv. Microbial Physiol.*, **10**, 135 (1973).

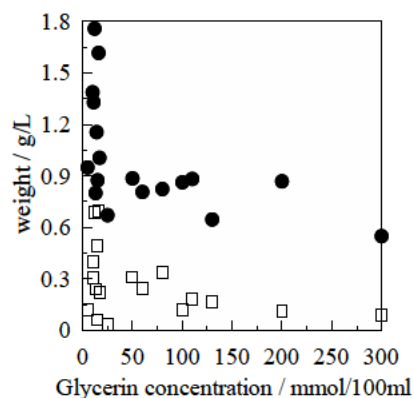


Fig. 1 P3HB biosynthesized from the carbon source of glycerin.
●: Dry cell weight □: Polymer weight

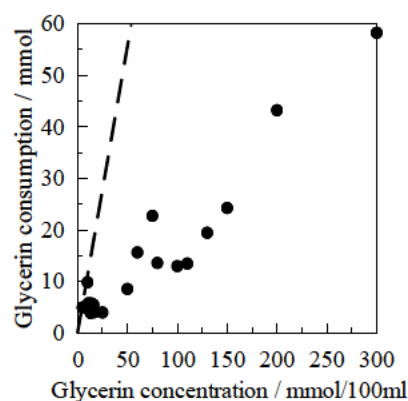


Fig. 2. Glycerin consumption during P3HB biosynthesis.

Metabolic efficiency of glycerin carbon source during biosynthesis of poly (3-hydroxybutyrate) by microorganism *R. eutropha*

Hiroto YOKOE, Takahiko NAKAOKI (Department of Materials Chemistry, Ryukoku University, Seta Otsu 520-2194, Japan) Tel:077-543-7661, Fax:077-543-7483, E-mail:nakaoki@rins.ryukoku.ac.jp