

[成果情報名] L-アラビノースからのキシリトール発酵生産

[要約] 遺伝子組換えにより代謝経路を改変した大腸菌を用いて L-アラビノースをキシリトールに変換する技術である。培養 24 時間で 10.5 g/L の L-アラビノースから 92 % の収率で 9.7 g/L のキシリトールを生産することができる。

[キーワード] キシリトール、L-アラビノース、代謝工学、微生物変換

[担当] 食総研・食品バイオテクノロジー研究領域・機能分子設計ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8061

[区分] 食品

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

キシリトールは低カロリー、非う蝕作用等の現代の健康志向に適した特性を持つことから、機能性甘味料として需要が増加している。現在、キシロースを化学的に還元することによりキシリトールは生産されているが、純度の高いキシリトールを得るためには、パルプやコーンコブ等のキシロース含量が元々高い原料を使用する必要がある。一方、稲わら等の未利用・低利用バイオマス中にもキシロースが多く含まれており、これらの資源からキシリトールが効率的に生産することができるようになれば、バイオマスの有効利用にも繋がるのが期待される。しかし、多くのバイオマスにはキシロースに加え、L-アラビノースも多量に含まれており、化学的還元法では L-アラビトールが副生してしまう問題がある。そこで、本研究では L-アラビノースからキシリトールを生産する技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 遺伝子組換えにより、(i) L-アラビノースを L-リブロースに変換する L-アラビノースイソメラーゼ、(ii) L-リブロースを L-キシロースに変換する D-プシコース 3-エピメラーゼ、(iii) L-キシロースをキシリトールに変換する L-キシロースレダクターゼの 3 つの酵素遺伝子 (図 1) を利用することにより L-アラビノースをキシリトールに変換する新たな代謝経路を大腸菌内に構築する。さらに、変換経路の代謝中間産物の消費を防ぐために、宿主菌の L-リブロキナーゼ、L-リブロース 5-リン酸 4-エピメラーゼ、L-キシロキナーゼ遺伝子を破壊する。
2. 大腸菌の L-アラビノース代謝関連プロモータを利用することにより、基質 (L-アラビノース) のみで、発現誘導物質を別途添加することなく、変換経路を構成する 3 つの酵素を同時に発現させることが可能である (図 2)。
3. この変換経路を導入した大腸菌を使用することにより、培地に加えた L-アラビノースをキシリトールに変換できる。しかし、このままではキシリトール収率 (基質 L-アラビノース量に対するキシリトール収率) は 25% と低い (図 3)。
4. 収率が低い原因として、3 段階目の反応に必要な補酵素 (NADH) の不足が推察される。補酵素を再生させるためにグリセロールを培地に添加することによりキシリトール収率は大幅に改善され、培養 24 時間で、10.5 g/L の L-アラビノースから 9.7 g/L のキシリトールを生産することが可能である。この場合のキシリトール収率は 92% となる (図 4)。

[成果の活用面・留意点]

1. バイオマスを原料にした効率的なキシリトール生産のためには、キシロースからキシリトールの変換も併せて行う必要がある。
2. 本菌に、さらに補酵素再生系を導入することにより、グリセロールを添加せずとも収率良く L-アラビノースをキシリトールに変換することが可能になると考えられる。

[具体的データ]

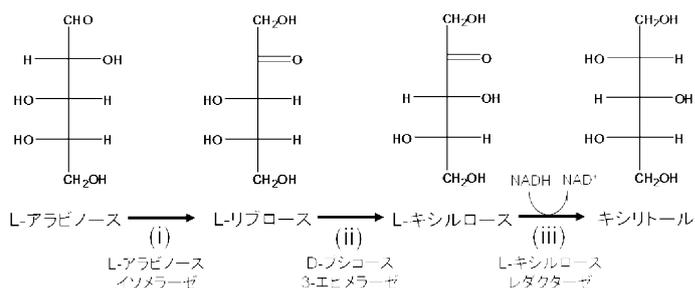


図1 L-アラビノースからキシリトールへの変換経路

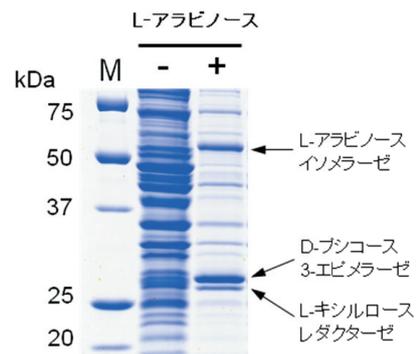


図2 遺伝子組換え大腸菌における変換酵素の発現 (L-アラビノース存在下(+)で、3つの変換酵素が発現している.M:分子量マーカー.)

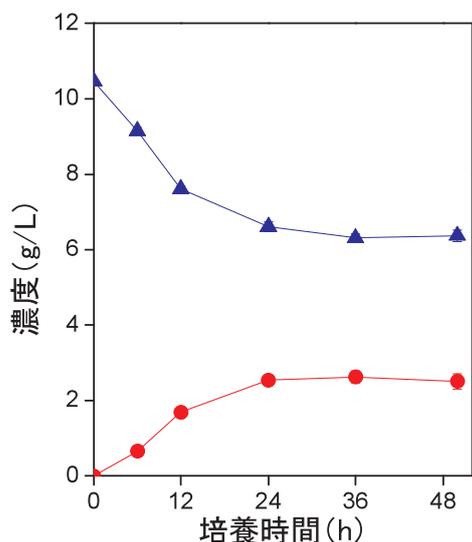


図3 変換経路を導入した大腸菌によるL-アラビノースからキシリトールへの変換 (▲:L-アラビノース、●:キシリトール)

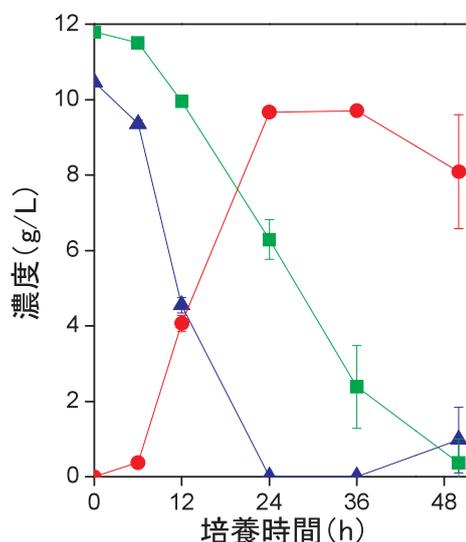


図4 グリセロール添加時のL-アラビノースからキシリトールへの変換 (▲:L-アラビノース、■:グリセロール、●:キシリトール)

(榎原祥清)

[その他]

研究課題名: 微生物代謝工学を用いた希少糖生産方法の開発

中課題整理番号: 313e

予算区分: 基盤

研究期間: 2006~2010年度

研究担当者: 榎原祥清

発表論文等: Sakakibara Y. et al. (2009) *J. Biosci. Bioeng.* 107 (5) 506-511.