



Title	LC/MS/MS-based metabolic profiling for the improvement of <i>Synechococcus elongatus</i> 1-butanol-producing strains
Author(s)	Fathima, Artnice Mega
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/73547">https://doi.org/10.18910/73547</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## Abstract of Thesis

Name (ARTNICE MEGA FATHIMA)	
Title	<p><b>LC/MS/MS-based metabolic profiling for the improvement of <i>Synechococcus elongatus</i> 1-butanol-producing strains</b></p> <p>(1-ブタノール産生<i>Synechococcus elongatus</i>株改良に向けたLC / MS / MSベース代謝物プロファイリング)</p>
<p>1-Butanol is considered an important commodity chemical and advanced biofuel. To allow 1-butanol production in a sustainable manner, recently photosynthetic organisms, such as cyanobacteria, have become attractive model microorganism for their ability to convert carbon dioxide to valuable products. Microbial 1-butanol is natively produced via a natural metabolic CoA-dependent pathway in selected species of <i>Clostridia</i>. In relation to this, a cyanobacterial strain, capable of producing 1-butanol was engineered by introducing a modified <i>Clostridial</i> CoA-dependent pathway. However, the 1-butanol titer in engineered cyanobacteria is still considered to be low compared to other microbial hosts. Therefore, cyanobacterial-based 1-butanol production is needed to be improved. In recent years, metabolomics-based approaches for strain improvement are widely being employed, which enables rapid detection of important metabolites in the production pathway. Metabolomics, a comprehensive study of metabolites, is able to demonstrate the downstream effects of gene and protein regulation, arguably representing the closest correlation with phenotypic features. Therefore, a deeper understanding of the metabolic state of <i>Synechococcus elongatus</i> 1-butanol producing strains offers an effective way to facilitate strain improvement. In this study LC/MS/MS-based metabolic profiling was applied, allowing for the identification of the possible target for pathway modification in the CoA-dependent pathway to ultimately improve both titer and productivity.</p> <p>In Chapter 1, general introductions regarding <i>Synechococcus elongatus</i> 1-butanol producing strains and the potential of using metabolomics to find possible target for strain improvement are presented. In Chapter 2, comparative metabolic profiling of <i>Synechococcus elongatus</i> 1-butanol producing strains using LC/MS/MS methods were conducted to identify possible targets for strain improvement in the 1-butanol biosynthesis pathway. The data suggested that PduP enzyme that catalyzed butanoyl-CoA to butanal reaction was required to be improved. Subsequently, modification based on the finding was performed and a new strain, named DC7, outperformed 1-butanol titer of published strain by 33%. In Chapter 3, a newly possible target for strain improvement, acetyl-CoA to malonyl-CoA reaction, was realized. Optimization of acetyl-CoA to malonyl-CoA resulted in the highest reported 1-butanol productivity for engineered <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942. In Chapter 4, the summary of important conclusions obtained from this study and the future perspectives are described.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( ARTNICE MEGA FATHIMA )			
論文審査担当者	(職) 氏 名		
	主 査	教 授	福崎 英一郎
	副 査	教 授	大政 健史
	副 査	教 授	松田 史生
	副 査	教 授	村中 俊哉
	副 査	教 授	藤山 和仁
	副 査	教 授	渡邊 肇
	副 査	教 授	紀ノ岡 正博
	副 査	教 授	内山 進

論文審査の結果の要旨

1-ブタノールは化学品の原料やバイオ燃料として重要である。1-ブタノールを持続的に生産するために、近年、光合成により二酸化炭素を固定し、有用な化合物を生産するシアノバクテリアなどのモデル微生物が注目を集めている。自然界で微生物 1-ブタノールは、*Clostridia* の特定の種で CoA 依存経路を使用して生産される。これを利用し、*Clostridia* の CoA 依存経路を導入することで、1-ブタノールを生産できるシアノバクテリア株が作製された。しかし、作製されたシアノバクテリアの 1-ブタノール力価は他の微生物宿主に比べて依然として低いと考えられている。したがって、シアノバクテリアを利用した 1-ブタノールの生産性向上が求められている。近年、生産経路における重要な代謝産物を迅速に検出できるメタボロミクスに基づくアプローチが、菌株改良のために広く用いられている。代謝産物を網羅的に解析するメタボロミクスは、遺伝子およびタンパク質制御の下流の影響を説明でき、表現型の特徴と最も近い相関関係を表している。したがって、*Synechococcus elongatus* 1-ブタノール産生株の代謝状態をより深く理解することで、株改良の促進につながると考えられる。本研究では LC / MS / MS ベースの代謝物プロファイリングを利用し、力価と生産性の両方を向上させるために CoA 依存経路における標的となる代謝経路の同定を行った。

第 1 章では、*Synechococcus elongatus* 1-ブタノール産生株の紹介と、株改良のための標的となる代謝経路を見出す際にメタボロミクスが有用であることを述べている。第 2 章では、LC / MS / MS 法を用いた *Synechococcus elongatus* 1-ブタノール産生株の比較代謝プロファイリングを行い、1-ブタノール生合成経路における株改良のための標的を同定した。データから、butanoyl-CoA からブタノールへの反応を触媒する PduP 酵素の改良が必要であることが示唆された。続いて、この知見に基づく改変を行い、DC7 と命名された新しい株は、既存の株の 1-ブタノール力価を 33% 上回った。第 3 章では、菌株改良のための新たな標的、アセチル CoA からマロニル CoA への反応が改良された。アセチル-CoA がマロニル-CoA に変換される反応を最適化することで、*Synechococcus elongatus* PCC 7942 の改良株の中で、これまでに報告された最大の 1-ブタノール生産性を示した。第 4 章では、本研究から得られた結論の要約と将来の展望について述べる。