



研究ノート

# バイオプロセスのシステムと要素

清水 浩\*

## Systems and Elements in Bioprocesses

Key Words : Biotechnology, Metabolic Engineering, Microbial Interaction, Bioprocess Data Mining, Fermentation Process Control

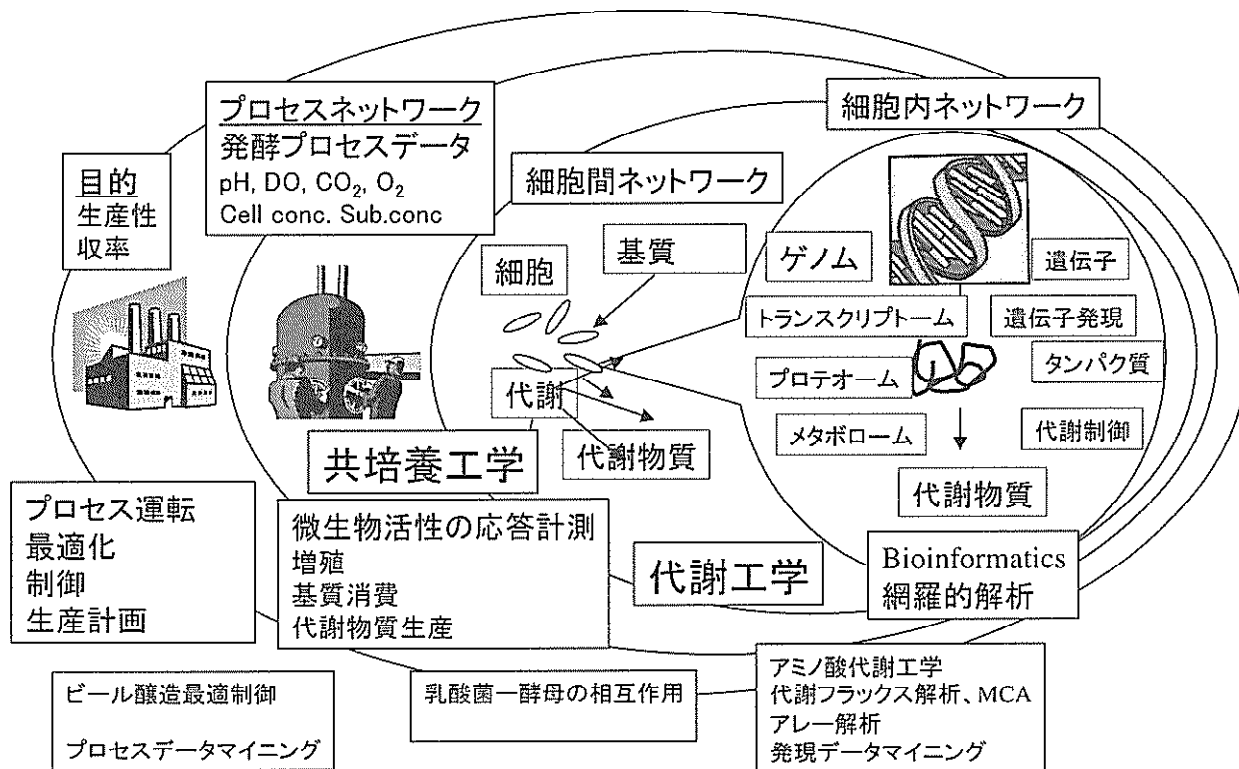


図1 バイオプロセスのシステムと要素

### 1. はじめに

21世紀は生物学の時代であるといわれるまでもなく、生物学の新しい知見が日々、次々と報告されて

いる。本年2月にネイチャー誌が日米欧の国際共同研究グループによるヒトゲノム解読に関する論文の特集号を出したのは記憶に新しい。数年前までは10万はあると思われていたヒトの遺伝子は3万強しかなく、ハエの2倍程度の数であることが明らかになった<sup>1)</sup>。この事実は、生命の設計図が遺伝子であるということから考えると、とても驚きで、生物を理解するためには、より複雑な仕組みの発見が必要であることが感じられる。ひるがえって、人類は遺伝子の本体がDNAであることが発見されるずっと以前から生物を利用して多くのものを造ってきた。動植物を利用した農林水産業においてのみならず、醸造、



\* Hiroshi SHIMIZU  
 1961年12月19日生  
 1989年京都大学大学院・工学研究科・化学工学専攻・博士課程・単位取得中退  
 現在、大阪大学大学院・工学研究科・応用生物工学専攻、助教授、工学博士、  
 生物プロセスシステム工学・代謝工学  
 TEL 06-6879-7446  
 FAX 06-6879-7446  
 E-Mail shimizu@bio.eng.osaka-u.ac.jp

食品、化学、医薬などの分野において生物を利用したバイオプロダクトは、われわれの生活の中で、遠い昔から現在に至るまで必要不可欠なものとなっている。また、地球環境や生態系の保護においても生物を理解し利用することは今後、必須な技術となって来るであろう。われわれの研究室では、生物を利用した物質生産や環境保護を行う際の、優良生物の育種からその能力発現に到る様々な過程(工程)における操作法の設計や探索について研究を行ってきた。図1には物質生産を行う立場から見たバイオプロセスのシステムと要素を示す。すなわち、生物は、多くの階層をもった情報ネットワークシステムとその要素であると考えることができる。つまり、細胞を中心にして、ミクロな視点への広がりやマクロな視点への広がりを図の中に見ることができるのである。

## 2. 生物システムのネットワーク

最近の生物学における興味は、ひとことでいえば、ミクロへの広がり、分子レベルでの生物の営みを理解しようという方向に大きく傾倒しているといえよう。生物の機能や働きを分子レベルで把握する技術

が格段に進歩し、中でも分子レベルの可視化技術の革新的な進歩が今日のゲノムサイエンスなどの進歩に大きく貢献している。生物を分子レベルで理解すること、すなわち、ミクロな視点において生物を還元主義的に理解するための情報の質と量が爆発的に向上し、これによって生物学が大きく進歩したといえる。一方、1960年代から目的のバイオプロダクトを安定的に効率よく生産するために、化学反応工学のアナロジーとして生物化学工学が社会の要求を受けて誕生し、微生物活性を化学反応速度パラメータに置き換えることで、生物プロセスの最適化、制御法などが確立されていった。また、最近のコンピュータを含めた情報技術の進歩により、マクロな視点においても扱える情報の質と量が向上している。このように、生物プロセスは、遺伝子、タンパク質、代謝などの細胞内の情報ネットワークと、細胞間、生産プラント間などの細胞外の情報ネットワークへと、多段階の階層からなる情報システムネットワークであると考えることができる。図中に各階層のレベルで現在行われているプロジェクトを示す。本稿では、そのうちのいくつかについて、紹介したいと思う。

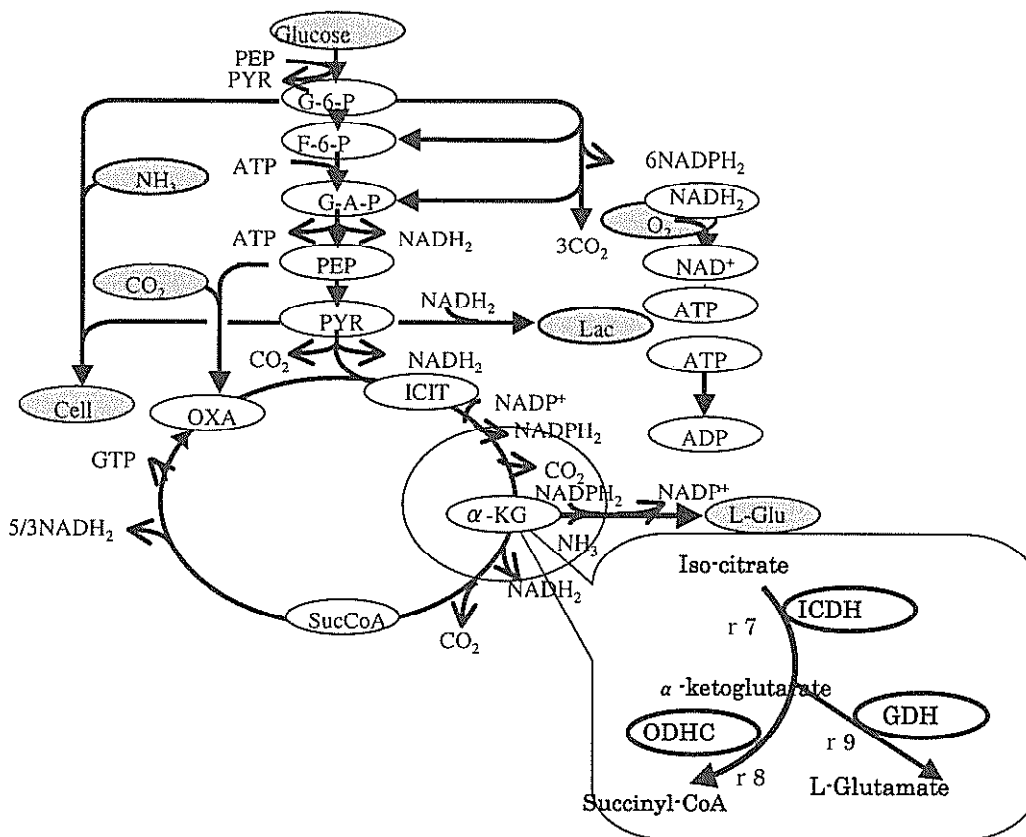


図2 グルタミン酸発酵における代謝マップと鍵となる分岐点(2オキソグルタル酸)

### 3. 最近の研究成果について

#### 3.1 細胞内のネットワーク(遺伝子発現から代謝フラックスに到るネットワークの解析)

図2にコリネ型細菌と呼ばれるアミノ酸発酵に用いられるバクテリアのグルタミン酸生産代謝マップを示す。このバクテリアは、条件が良ければ、非常に高収率でグルコースなどの糖源をグルタミン酸に変換できる微生物である。しかし、通常に増殖している期間はほとんど自らの細胞構成成分に必要なグ

ルタミン酸しか作らない。われわれの研究室では、代謝フラックスのバランスを考慮することにより、どのような代謝経路の変化がこのグルタミン酸生産に影響を及ぼすのかについて調べた。図2に抜き出して示している部分はグルタミン酸生産の鍵となる分岐点のひとつ(TCAサイクル中の2オキソグルタル酸)である。ここでは、この分岐点回りの酵素活性の変動、フラックスの変動がどのように定量的に関係しているのかを調べた。どの遺伝子の増幅、減衰がグルタミン酸発酵について最も効果的であるか

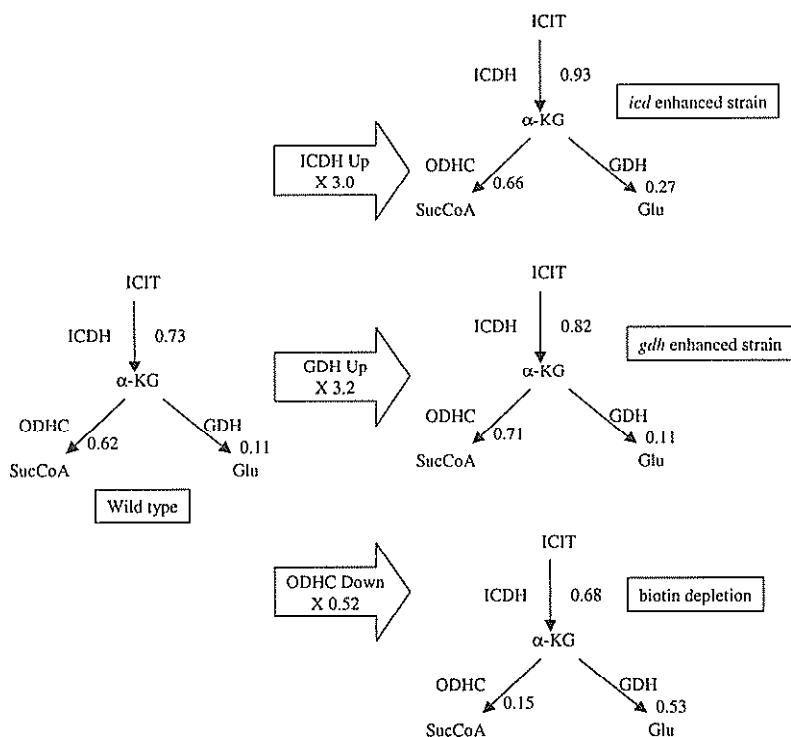


図3 2オキソグルタル酸回りの酵素量の変動と代謝物質生産量の変化(ODHCを減衰させることがグルタミン酸生産に最も有効であることがわかる)

について定量化した(図3)<sup>2)</sup>。また、細胞内の代謝流束分布のオンライン診断とそのプロセス運転への応用や<sup>3)</sup>、代謝反応モデルに基づく最適操作の構築を行った<sup>4)</sup>。この研究は、現在、遺伝子発現、酵素量、代謝反応の変化を、より網羅的に解析すべく進めているところである。

#### 3.2 細胞間のネットワーク(共培養工学の進歩)

食品や醸造の工程で見られるように、古来、人間は複数の微生物の協調的な働きを物質の変換や生産に役立ててきた。生物の持つ柔軟な環境への適応能力や環境変動へのタフさの一因はこのような細胞外の情報のやりとりができるところにもあるのかもしれない。図4はどちらも乳製品の製造過程で現れる乳酸菌と酵母の相互作用を模式的に示したものである。乳酸菌はマルトースを資化して増殖するがエネルギー獲

#### Development of Operation Strategy

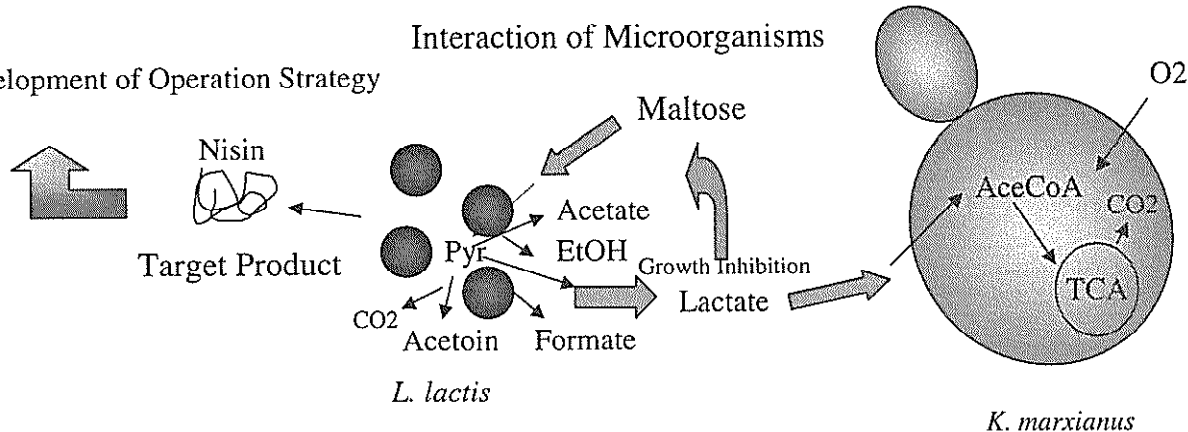


図4 乳酸菌と酵母の相互作用とナイシン生産への利用

得のために乳酸を作らざるを得ないため、単独では pH や乳酸濃度が増加し、自らの増殖を阻害してしまふ。一方、この酵母はマルトースを競争的に消費することなく、乳酸を消費するので、この微生物同士は協調的に両者が増殖することができる。この乳酸菌は食品保存料として期待されているナイシンを増殖と連動して作るため、この協調関係を人工的に促進する仕組みを付加することにより、目的物質生産は純粋培養系に比べ、数倍から20倍程度、上昇させることが可能であった。現在、この系を共生のモデル系として、微生物間の物質を介した相互作用やダイナミズムの解析を行っているところである<sup>5)</sup>。

### 3.3 発酵生産における情報処理技術の展開 (人工ニューラルネットワークによるバイオプロセスデータマイニング)

バイオプロダクトの生産において最も大事なものは、用いる生物の特性を考慮した上での最適なプロセスの運転方法の構築であろう。しかし、これが行えたとしても、日々の操業においては、プロセスの異常状態の監視や操作など安定した生産のためにプロセスデータの取得、監視、状態診断、運転指示などがより重要なこととして、行われなければならない。多くのバイオ産業のプロセスはこの目的のために、自動化されプロセスデータの蓄積を行っている。しかし、このデータは膨大なものとなるため、そこから上記の目的にとって重要な事項を抽出することが

非常に難しい。我々の研究室では最適操作法を確立した遺伝子組換え酵母培養系や抗生物質生産放線菌培養系においてプロセスの異常を多変量データから

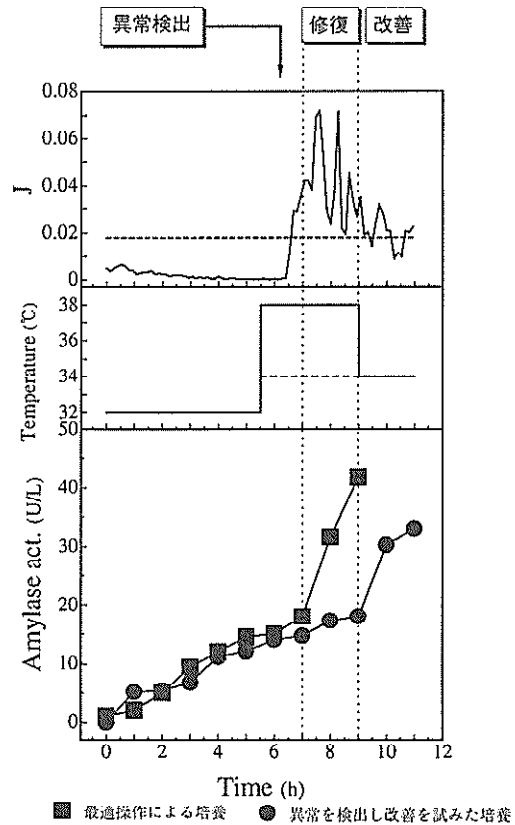


図5 人工ニューラルネットワークを用いた抗生物質生産の異常診断と修復操作による生産量快復

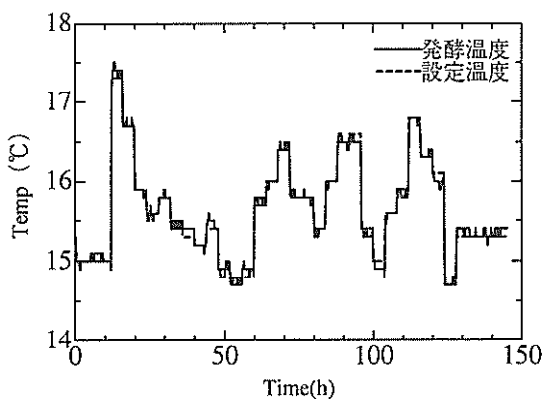
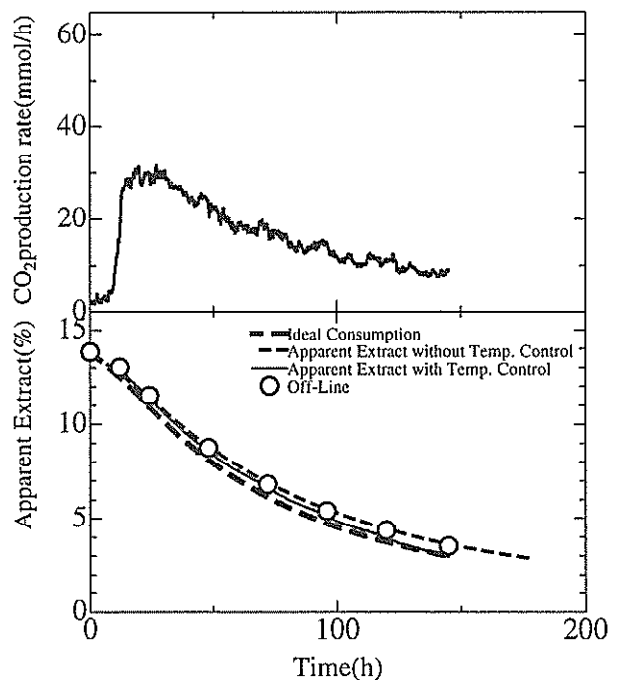


図6 ビール醸造における麦汁エキス濃度制御



検知することができる人工ニューラルネットワークシステムを開発した。図5に示すように、プロセスの異常を知らせ、修復することにより、より安定な生産を促すシステムが構成された<sup>6)</sup>。

### 3.4 バイオプラントネットワークの制御 (ビール醸造最適化)

最後に紹介するこの研究は、より生産プラントに近い階層における問題解決のアプローチである。ビール醸造では麦汁中に植菌されるビール酵母の活性がロット毎に異なるため、規定量の糖(エキス)をエタノールに変換させるための発酵時間はこの酵母活性に依存して変動する。ビール醸造は麦汁生産工程、発酵工程、貯酒工程など種々の工程があり、各工程のプラント間でネットワークが存在する。発酵進行度のばらつきは、このようなネットワークにおいて、生産計画を立てたり、生産性や品質を安定させたりする上で非常に問題となると考えられる。ここで、最も難しい問題は、ビール発酵は静置培養であり、どの程度の酵母量が存在するか、活性がどの程度あるかが即時的にはわかりにくいことであった。ここでは、ビール醸造システムに各種センサを取り付け、特に二酸化炭素生産速度の生成量に注目することで、酵母の活性を診断を行い、所与の時間に正確に発酵を終了することのできるシステムの開発を行った。図6に発酵制御の結果を示す。工業的な醸造プロセスには、ここに示すように静置培養系や固相培養系など、微生物の活性を把握すること自体が困難なプロセスが現実に多く存在する。このような、産業上で現実に起こりうる問題を具体的に解決する中で、新しい培養技術を創成していくことも工学研究科にある生物工学分野の研究室としてとして極めて重要な仕事だと考えている。

### 4. 生物プロセスシステム工学における今後の展望

以上、述べてきたように、われわれの研究室では、階層の異なる情報ネットワークを有する生物システムについて色々な階層に踏み込んで研究を行ってきた。今後、これらの情報を扱う際の大きな問題は、図1に示した各階層の情報を有効に関係づけることであると考えている。つまり、細胞内に存在する遺伝子、タンパク質、代謝制御の各ネットワークはどのように機能し、細胞の生理を表現するのかを考察する必要がある。生物プロセスの最適化などの目的を達成するために、微生物の活性、代謝経路の流束

の分布、遺伝子発現情報と解析を進め、さらに、この解析結果を逆向けにたどって生物の育種やプロセスの操作法を設計することが必要であり、そのためには、各階層の情報を結びつける方法論が開発されるかどうか問題となる。また、その際に、膨大なデータの中から目的にかなった情報だけを有効に発見する技術、データマイニング技術が今後、ますます重要になってくると考えられる。

### 参 考 文 献

- 1) Initial sequencing and analysis of the human genome, *Nature*, 6822, 860-921 (2001)
- 2) Analysis of L-glutamate production by metabolic engineering approach, Hiroshi Shimizu, Hisaya Tanaka, Akinori Nakatoh, Eiichiro Kimura, and Suteaki Shioya, *Proceeding of United Engineering Foundation Conference on Metabolic Engineering III*, Colorado, 22-27, Poster 1.25, Oct 2000 (A. J. Sinskey, B. Buckland, and J. Bailey, ed.)
- 3) An on-line physiological state recognition system for the lysine fermentation process based on a metabolic reaction model, Noboru Takiguchi, Hiroshi Shimizu, and Suteaki Shioya, *Biotechnology and Bioengineering*, 55 (1), 170-181 (1997)
- 4) A maximum production strategy of lysine based on a simplified model derived from metabolic reaction network, Hiroshi Shimizu, Noboru Takiguchi, Hisaya Tanaka, and Suteaki Shioya, *Metabolic Engineering*, 1 (4), 299-308 (1999).
- 5) Nisin Production by a Mixed Culture System consisting of *Lactococcus lactis* and *Kluyveromyces marxianus*, Hiroshi Shimizu, Taiji Mizuguchi, Eiji Tanaka, and Suteaki Shioya, *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3134-3141 (1999)
- 6) Bioprocess fault detection by nonlinear multivariate analysis: application of artificial autoassociative neural network and wavelet filter bank, Hiroshi Shimizu, Kouichi Yasuoka, Keiji Uchiyama, and Suteaki Shioya, *Biotechnology Progress*, 14(1), 79-87 (1998)