วิศวกรรมของเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ KJ122 เพื่อผลิตกรดซักซินิกจากไซโลส

พรรวณา ขุนโนนเขวา และเขมวิทย์ จันต๊ะมา
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

E. coli KJ122 ได้ถูกดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อให้สามารถผลิตซักซิเนตในระดับความเข้มข้น และผลผลิตที่สูงในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างง่ายที่มีกลูโคส ด้วยการหมักอย่างง่ายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซโลสอย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากการยับยั้งกระบวนการสลายของน้ำตาลไซโลสเนื่องด้วยกลูโคส (catabolic repression) ดังนั้นเพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการนำเข้าและใช้น้ำตาลไซโลสของเชื้อ *E. coli* KJ122 ยีนที่ควบคุมการขนส่งน้ำตาลไซโลสเข้าสู่เซลล์ (*xylFGH*) ได้ถูกยับยั้งด้วยเทคนิคการตัดสายพันธุกรรมทิ้ง ได้สายพันธุ์กลายพันธุ์ที่มีชื่อว่า *E. coli* KJ12201 (*E. coli* KJ122 ที่ถูกตัดยีน *xylFGH*) ที่มีความสามารถในการเจริญ การใช้น้ำตาลไซโลสและการผลิตซักซิเนตที่สูงมากเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น หลังจากการวิวัฒนาการของกระบวนการสร้างและสลาย พบว่า *E. coli* KJ12201-14T สามารถใช้น้ำตาลไซโลสความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) อย่างมีประสิทธิภาพในการผลิตซักซิเนตที่ความเข้มข้นสูงถึง 84 กรัมต่อลิตร โดยมีการสะสมของอะซิเตทที่ความเข้มข้น 11 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างง่าย (AM1) ภายใต้สภาวะการหมักแบบไร้ออกซิเจนแบบกะ อีกทั้งในระหว่างกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ พบว่า *E. coli* KJ12201-14T สามารถผลิตซักซิเนตที่ความเข้มข้น 84 กรัมต่อลิตร โดยมีผลผลิตอยู่ที่ 0.85 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า *E. coli* KJ12201-14T น่าจะเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตซักซิเนตจากน้ำตาลไซโลส และไฮโดรไลสตที่มีน้ำตาลไซโลสซึ่งได้จากวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Engineering of *Escherichia coli* KJ122 for succinate production from xylose

Panwana Khunnonkwao and Kaemwich Jantama
School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology
Suranaree University of Technology

Escherichia coli KJ122 strain was previously engineered to produce high titers and yields of succinate in mineral salts medium containing glucose under simple batch anaerobic conditions. However, this strain does not efficiently utilize xylose due to catabolic repression. To improve the xylose uptake and its utilization of *E. coli* KJ122, genes *xylFGH* were inactivated by gene deletion techniques. The mutant strain named *E. coli* KJ12201 (*E. coli* KJ122 Δ*xylFGH*) exhibited high abilities in fast growth, xylose consumption and succinate production compared to those of the parental strains. After performing metabolic evolution, *E. coli* KJ12201-14T efficiently consumed 10% (w/v) xylose to produce a high succinate concentration at 84 g/L with an accumulated acetate concentration at 11 g/L in mineral salts medium (AM1) under batch fermentation. During fed-batch fermentation, *E. coli* KJ12201-14T produced succinate at a concentration, yield, and overall productivity of 84 g/L, 0.85 g/g, and 1.0 g/L/h, respectively. These results demonstrated that *E. coli* KJ12201-14T would be a potential strain for the economic bio-based succinate production from xylose and other-rich hydrolysates derived from lignocellulosic materials.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี