

「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」

H26 年度  
実績報告書

平成 22 年度採択研究代表者

早出 広司

東京農工大学 大学院工学研究院  
教授

シアノファクトリの開発

## § 1. 研究実施体制

### (1) 「早出」グループ

- ① 研究代表者: 研究代表者: 早出 広司 (東京農工大学大学院工学研究院・教授)
- ② 研究項目
  - ・シアノファクトリ開発

### (2) 「小山内」グループ

- ① 主たる共同研究者: 小山 内崇 ((独)理化学研究所環境資源科学研究センター・客員研究員)
- ② 研究項目
  - ・シアノファクトリ用 SigE 制御系の開発

### (3) 「日原」グループ

- ① 主たる共同研究者: 日原 由香子 (埼玉大学大学院理工学研究科・准教授)
- ② 研究項目
  - ・シアノファクトリ用 cyAbrB2、および RpaB 転写因子制御系の開発

## § 2. 研究実施の概要

本研究ではこれまで、1) 海洋合成シアノバクテリアホストの開発、2) バイオ燃料関連化合物生産用の合成オペロンの開発、3) バイオ燃料関連化合物高効率抽出用イオン液体プロセスの開発、さらにこれらを統合した、4) シアノファクトリを開発をすすめてきた。本年度は、新たに理化学研究所・小山内崇博士を代表とする小山内グループおよび埼玉大学大学院 理工学研究科・日原由香子博士を代表とする日原グループを迎え、加速度的に研究を展開した。

1) 海洋合成シアノバクテリアホストの開発においては、シアノバクテリアの自己凝集誘導に不可欠な、細胞表面へのタンパク質提示を光シグナルで誘導することに成功した。また、緑色光センシングシステムを構成するタンパク質である CcaS の改良に成功した。さらに、青色光センシングシステムの構築を目指し、*Synechococcus* sp. NKBG 15041c のトランスクリプトーム解析を行うことで、青色光により発現が制御される遺伝子を見出した。

遺伝子発現制御に不可欠なリボレギュレータについては、昨年度までに構築してきたリボレギュレータが *Synechococcus* sp. NKBG 15041c 内で正しく動作することを確認した。さらに、大腸菌由来の Hfq 結合配列を連結した taRNA は細胞内での安定性が向上し、結果として大腸菌由来 Hfq を組み込んだ *Synechocystis* sp. PCC 6803 内で遺伝子発現能が約 2.5 倍向上した (Sakai *et al.* 2015)。

一方、物質生産に適した代謝改変シアノバクテリアの開発を目指し、*Synechocystis* sp. PCC 6803 について糖代謝グローバルレギュレータである SigE などの過剰発現株の構築・解析や、代謝系のグローバルレギュレータである cyAbrB2 や光合成系のグローバルレギュレータである RpaB の発現制御を試みた。

2) バイオ燃料関連化合物生産用の合成オペロンの開発においては、前年度までに構築したアルカン合成オペロン発現ベクター中のプロモータを改良することで、*Synechococcus* sp. NKBG 15041c におけるアルカンの生産量を増加させることに成功した一方、同株においてアルカン合成と競合する脂肪族アルコール合成経路の存在を示唆する結果を得た。これをノックアウトすることでさらなる生産量の向上が期待される。

3) バイオ燃料化合物高効率抽出用イオン液体の開発では、スターチを溶解し、二相系を利用することで簡便にスターチ回収を実現するイオン液体の合成を試みた。高い水素結合受容性を持つアニオンと疎水性のカチオンとを組み合わせることで、疎水性且つ高極性イオン液体を設計した。

4) シアノファクトリを開発においては、*Synechocystis* sp. PCC 6803 由来の緑色光センシングシステムが形質転換された大腸菌を用いて、緑色光による菌体の凝集回収システムを開発した。また、本年度から本チームに合流した、理化学研究所 小山内博士、埼玉大学 日原准教授が各々保有するグローバルレギュレータ欠損株に対し、前年度までに構築してきた緑色光誘導型溶菌システムをそれぞれ組み合わせたシアノファクトリの構築を試みた。また、PHB 生産シアノファクトリの構築については、PHB 合成オペロンを導入した海洋シアノバクテリア *Synechococcus* sp. NKBG 15041c の培養条件を改良することで、PHB 蓄積量をこれまでより大幅に増大させることに成功した。さらに藻体成分を溶解し、且つ藻体内に生産した PHB を溶解しないイオン液体を見出

し、これを用いることで藻体内に産生された PHB の約 98% を回収でき、さらにイオン液体についても藻体溶解性を保持したまま 98wt% 以上リサイクルできることを確認した (Kobayashi *et al.* 2015)。

以上示したように、シアノファクトリ開発に向けて様々な要素技術の開発が進んでおり、これらの技術を組み合わせることで、低エネルギーバイオプロセスの構築が期待出来る。

—

#### **【主要論文】**

- Yuta Sakai, Koichi Abe, Saki Nakashima, James J. Ellinger, Stefano Ferri, Koji Sode, Kazunori Ikebukuro, “Scaffold-fused riboregulators for enhanced gene activation in *Synechocystis* sp. PCC 6803” *MicrobiologyOpen*, 2015, in press
- Daigo Kobayashi, Kyoko Fujita, Nobuhumi Nakamura and Hiroyuki Ohno, “A simple recovery process for biodegradable plastics accumulated in microalgae treated with ionic liquids” *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(4), 1647-1653., (DOI : 10.1007/s00253-014-6234-1)