

「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」

平成23年度採択研究代表者

H27年度
実績報告書

植田 充美

京都大学大学院農学研究科
教授

藻類完全利用のための生物学技術の集約

§ 1. 研究実施体制

(1)「京都大学」グループ

① 研究代表者: 植田 充美 (京都大学大学院農学研究科、教授)

② 研究項目

1. プロテオーム解析による大型藻類資化バスターミックス酵素の最適化の探索
2. アルギン酸を分解できる酵素群の単離と発現
3. エネルギー関連希少金属を吸着できる細胞触媒を調製と機能評価の実施

(2)「三重大学」グループ

① 主たる共同研究者: 柴田 敏行 (三重大学大学院生物資源学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・褐藻類を構成する多糖類と糖アルコールの定量分析
- ・褐藻類に特徴的なフィトケミカルの構造と生理機能の解析
- ・褐藻類に対する *C. cellulovorans* の網羅的遺伝子発現解析
- ・褐藻類分解性細菌の探索および分解機能の網羅的解析

(3)「九州大学」グループ

① 研究代表者: 川口 栄男 (九州大学大学院農学研究院、教授)

② 研究項目

- ・アラメ属・カジメ属褐藻類の採取と分類
- ・アラメ属・カジメ属褐藻類の栽培技術の確立
- ・ホンダワラ科褐藻類の分布・資源量調査

・東南アジア地域での未利用大型海藻資源開発

(4)「早稲田大学」グループ

① 主たる共同研究者:モリ テツシ(早稲田大学理工学術院、講師)

② 研究項目

・メタゲノム解析を基盤とするゲノム資源活用プラットフォームの構築

(5)「大阪大学」グループ

①主たる共同研究者:吉川 裕之 (大阪大学大学院工学研究科、助教)

②研究項目

1. ナノ構造電極の開発
2. 燃料電池作製
3. 電解生成物解析

§ 2. 研究実施の概要

海洋・水圏バイオマスを基盤として、大型藻類バイオリファイナーをめざしたバイオマス変換プロセスを実現するためには、非可食大型藻類を原料として、その資源の増殖(養殖)と育種や調査をもとに、全成分のエネルギーへの変換を実現する。このために、京大の細胞表層工学とソフトバイオマス分解微生物 *Clostridium cellulovorans* の遺伝子特許や他の海洋微生物のゲノム情報を活用して、非可食大型藻類を分解できるベストミックス酵素群を用いたエキスパート触媒の構築をめざしてきて、完成近くまできている(Takagi et al. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100, 1723-1732 (2016))。京大グループの新規開発のモノリスLC/MS解析で、難分解性アルギン酸の分解と細胞内への取り込みに関係するトランスポーターとピルビン酸に至る3つの酵素をコードする全遺伝子の単離に成功し(Takagi et al., *Marine Biotechnology*, 18, 15-23 (2015))、これらの酵素遺伝子の発現実験を行った。発現量の不足する酵素に対して、早大が中心のメタゲノムライブラリーから最適な酵素遺伝子を単離して置き換えつつある。大型藻類に貯留されているエネルギー生産に使用するレアメタルを選択的に吸着回収できるエキスパート触媒作製にも成功しており、これらをさらに還元する系の確立に成功した。また、これらのエキスパート触媒を働かせる反応温度を確保するために、非可食大型藻類から電力を阪大により開発した電極で確保していく。

<三重大と九大グループ> 非可食大型藻類(クロメ)の養殖の確保とその海外調査を行った。海外調査はほぼ終了し、国内調査が少し残っているため、最終年に持ち越した。新たに養殖資源の作出のためにアラメなどの大型藻類の種苗にも取り組み、日本の海洋バイオマス資源の増大への寄与が可能になった。

<早稲田大グループ>腐敗液から得られた海藻分解細菌のメタゲノムライブラリーに対し、アルギン酸リアーゼ(エンド型およびエキソ型)のスクリーニングを終了し、また次世代シーケンサーを用いた解析により得られたアルギン酸分解経路および代謝に関わる酵素の遺伝子を特定した(Mori et al. *PLoS One*,11(5):e0155537)。現在、褐藻の主成分であるアルギン酸の高効率の分解に向けて、これらの獲得遺伝子を *in silico* で解析し、新規かつ高活性の性質の可能性を持つ酵素を中心に活性評価を行った。同時に、ラミナラン(褐藻含有多糖類の一種)のリファイナー酵素、ラミナランの探索もメタゲノムライブラリーから引き続きを行った。

<阪大グループ>カーボンナノチューブや金属ナノ粒子などを修飾したナノ構造電極を用いて、多類、単糖、ポリフェノールなど大型褐藻類構成成分を電気エネルギーや有用資源に変換する直接電極反応型リファイナー技術の構築に取り組んだ。前年度までの研究において、大型藻類構成成分の中でバイオ工学的に有用物質への変換が難しいフコースを対象として、ナノ構造電極による電気化学特性の解析、電極構造や実験条件の最適化に取り組む、最大で約 2 mW/cm²の電力密度を達成した。また、光触媒特性を有するナノ構造電極の構造最適化し、ソーラシミュレータ装置を用いた光照射により、アルギン酸燃料電池の電力特性の向上を示した。さらに、光触媒電極の構造や作製法をより詳細に検討し、アルギン酸燃料電池の出力特性の改善に取り組んだ。電極の被毒により数時間程度しか動作しなかったアルギン酸燃料電池を、光触媒効果により24時間以上動作させることに成功し、クーロン効率を10倍以上向上させた。

【主要論文】

- Toshiyuki Takagi, Takahiro Yokoi, Toshiyuki Shibata, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Engineered yeast whole-cell biocatalyst for direct degradation of alginate from macroalgae and production of non-commercialized useful monosaccharide from alginate", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, pp.1723-1732, 2016
- Toshiyuki Takagi, Hironobu Morisaka, Shunsuke Aburaya, Yohei Tatsukami, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, "Putative alginate assimilation process of the marine bacterium *Saccharophagus degradans* 2-40 based on quantitative proteome analysis", *Marine Biotechnology*, vol. 18, No.1, pp. 15-23, 2016
- Tetsushi Mori, Mami Takahashi, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Toshiyuki Shibata, Seinen Chow, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda and Haruko Takeyama, "Falsirhodobacter sp. alg1 harbors single homologs of endo and exo-type alginate lyases efficient for alginate depolymerization", *PLOS One*, 11(5): e0155537, 2016