

「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

H23 年度 実績報告

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工学技術の集約

§ 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. 藻類細胞壁の前処理・糖化に最適なアーミング微生物育種の開始
 2. プロトプラストに生育制御遺伝子をインジェクションする生育育種基盤開発の試行

(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、講師)
- (2) 研究項目
 1. 脂溶性フィトケミカルの分離・検出法の開発

(3)「九州大学」グループ

- (1) 主たる共同研究者: 川口 栄男 (九州大学大学院農学研究院、教授)
- (2) 研究項目
 1. 完全利用に向けた大型海藻類バイオマス資源の確保および開発

(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、助教)
- (2) 研究項目
 1. 藻類リファイナリー酵素遺伝子分離源の確保とメタゲノムライブラリーの構築
 2. 藻類完全利用に向けた沿岸大型藻類選定および構成成分分析

(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. 研究実施内容

京都大学グループ

京都大学グループでは、細胞表層工学によるアーミング技術を基盤とした、藻類細胞壁の前処理・糖化に最適なアーミング微生物の育種へのプラットフォーム構築を検討した。

1. 本年度は、この足掛かりとして、藻類バイオリファイナリーの一環であるバイオマス変換プロセスの実現を目指し、大型藻類の処理に最適な遺伝子の選定を検討した。

大型藻類として養殖クロメ(天草産)を微粉碎処理した原料(図 1-B)を三重大学グループから提供された原料を用いて検討を開始した。また、バイオマス分解微生物モデルとして、強力な活性を持つセルラーゼ複合体セルロソームを生産するセルロース資化性菌を用いた。

微粉碎処理クロメを乾燥重 0.3% (w/v) 含む培地で培養した結果、クロメを分解して生育していることが確認できた(図 1-C)ので、この培養液に含まれる酵素を同定することにより、大型藻類の処理に最適な遺伝子の選定を検討した。

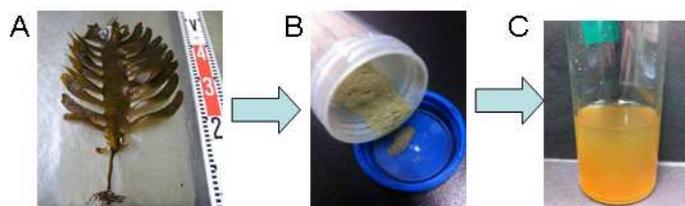


図 1 大型藻類の微生物による分解

培養液中に含まれる酵素の同定には、同菌を用いてセルロース分解時に生産されたセルロソームの構成酵素を同定した実績のある手法を用いた。同等のプロトコールで酵素の同定を試みたが、アルギン酸はマンヌロン酸とグルロン酸のポリマーで、藻類の完全利用には、セルロース類と併せて、これらも有効利用する必要がある。*Sphingobacterium* 属由来のアルギン酸リアーゼ処理により、粘土の低下が確認できたので、培養液を同様に処理し藻類分解に必要な酵素を同定する予定である。アーミング技術では、複数の酵素提示が可能であるので、アルギン酸の糖化に加え、グルコースのような発酵へのエネルギー変換を考えた微生物の育種をめざす。

2. 大型機器の選定と設置

藻類細胞の生育制御を研究するために、自動インジェクション装置の選定と設置を行った。今後、遺伝子、タンパク質や低分子の正確な定量導入とその効果を検証してゆく予定である。

三重大学グループ

本年度は、アラメ属・カジメ属褐藻類の中で代表的な藻種であるアラメ(天然藻体, 福岡・糸島産)とクロメ(養殖藻体, 天草・五和産)をターゲットのバイオマスに選定した。これらの藻類に含まれる細胞壁骨格多糖(セルロースとヘミセルロース)や細胞間粘質多糖(アルギン酸)の含量を明らかにすると共に、フィトケミカルの抽出とそれらの分離・検出法の開発に取り組んだ。さらにセルロソーム生産菌と海洋細菌それぞれについて、褐藻類分解に必要な培養条件の検討と実験環境の整備を行った。また、微粉碎したそれぞれの藻体から CHCl_3 と MeOH を用いて抽出液を調製し、Folch 法に準じて分配を行った。得られた脂溶性画分と水溶性画分についてフィトケミカルの分離と検出を試みた。フコステロールについては、Rxi-5Sil MS (0.25 mm I.D. x 30 m, RESTEK 製)を組み合わせた GC/MS で分離・検出出来る条件も確立した。

九州大学グループ

九州北岸域、特に福岡市を中心にした玄海灘沿岸域における大型褐藻類(アラメ、クロメ、ホンダワラ類)藻場の調査を、三重大学グループと共同で、平成 23 年 11 月、平成 24 年 2 月に、計 2 回行なった。また、大型海藻類バイオマス資源の開発を目的として、タイ国アンダマン海南部沿岸域での調査を平 23 年 12 月 13-20 日の期間で実施した。これまでの調査結果は、研究参加者であるお茶の水女子大学・畠田准教授、鹿児島大学・寺田准教授と共同で出現全種の同定をおこない、リストとして取り纏め中であり、早急に何らかの形で発表する予定である。

早稲田大学グループ

1. 水産総合研究センターの協力により、各種海藻摂食動物の飼育施設のセットアップを実施した。海藻摂食無脊椎動物は *Diadema setosum*、*Batillus cornutus* および *Haliotis gigantea* を用い、これらに特定海藻として *Ulva pertusa*、*Chaetomorpha crassa* および *Eisenia bicyclis* の 3 種をそれぞれ 33 日間給餌させ、海藻給餌前後で糞便を採取した。より高効率にメタゲノムを得るために、糞便からの腸内細菌の取得およびメタゲノムの抽出法の条件検討・最適化を行った。得られたメタゲノム内の細菌叢を評価した結果、細菌群のエンリッチメントが見られ、海藻関連微生物の取得の可能性が示された。また、アラメの表面に付着している海藻分解細菌を取得するための手法を検討し、メタゲノムを取得した。
2. 藻類完全利用に向けた沿岸大型藻類選定および構成成分分析
様々な遺伝子資源に限らず、藻類種の成分に応じたリファイナリー酵素遺伝子の探索も重要である。そこで、三重大学の協力を得て、標的となるアラメおよびクロメの成分分析を行った。その結果、標的となる代謝酵素の候補を決定した。

大阪大学グループ

1. 液体燃料の流量と温度を制御しつつ、電気化学特性や発電特性を連続的に測定できる燃料電池評価システムを導入し、動作確認を行った。藻類バイオマスを用いた発電特性と電解反応生成物分析を長時間に渡り連続的に解析することが可能となった。

2. 褐色藻類に多く含まれるアルギン酸の電気エネルギー変換およびリファイナリー技術の開発を目的とし、金ナノ粒子とカーボンナノチューブ(CNT)のナノ複合電極を用いたアルギン酸ナトリウムの電気化学測定を行った。ナノ複合電極を用いることによって、サイクリックボルタモグラム中に明瞭な酸化ピークが見られ、アルギン酸ナトリウムの電気化学的酸化や直接電気エネルギー変換が行える可能性を初めて示した。
3. 新しいナノ構造電極作製法として、金属イオンと還元剤を含む溶液中に可視レーザー光を照射することにより、基板上に金属ナノ粒子を析出させる手法の開発に取り組んだ。