

「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

H25 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. プロテオーム解析による大型藻類資化ベスト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し、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、講師)
- ② 研究項目
 1. 褐藻類に特徴的な脂溶性フィトケミカルと多糖類の定量分析
 2. 褐藻類に対する *Clostridium cellulovorans* の網羅的遺伝子発現解析
 3. 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)「九大」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
 1. アラメ属・カジメ属褐藻類の採取と分類
 2. ホンダワラ科褐藻類の分類・資源調査
 3. 東アジア・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、助教)

② 研究項目

1. メタゲノム資源よりリファイナリー酵素遺伝子のスクリーニング

(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ンリ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、確保した原料の大型藻類をもとにして、下記の分担研究を実施した。

京都大学グループは、昨年度確立したプロテオーム解析による大型藻類を資化できるベストミックス酵素群の遺伝子をすべて単離し、さらに、アルギン酸を資化できる酵素群を細胞表層に、エネルギーに代謝できる酵素群を細胞内に生産できる合成生物工学的細胞工場となるアルギン酸用エキスパート触媒の基本形を調製しつつある。また、原料の大型藻類のICP-MSデータをもとに、エネルギー関連希少金属を吸着できる細胞触媒を開発したので、性能評価をした。

三重大学グループは、褐藻類に特有なフィトケミカルの化学構造と生理機能を解析し、有用化合物のライブラリーを作成しつつある。さらに褐藻類を構成する糖質(多糖類、糖アルコール)の定量分析やセルロソーム生産菌と海洋性細菌の持つ糖質分解酵素遺伝子情報の解析も行い、微生物による海藻多糖完全分解を目指した遺伝子情報の収集とそれらの提供をした。

九州大学グループは、九州北岸域でのアラメ属アラメおよびカジメ属クロメの分布とバイオマスに関する調査を実施した。今年度は特にアラメ成熟体から胞子を得て培養株を確立することを試みた。12月初旬の材料から胞子を室内培養し、雌雄の微小配偶体培養株を確立した。また、福岡市周辺での大型ホンダワラ科海藻に関しては、生育種類の把握は既に終了しているので、その中でも比較的大型の種群((ジョロモク、アカモク、ホンダワラ、マメタワラ、タマハハキモク、エンドウモクなど)について、既存の調査資料により生育量を推定した。また、今年度からベトナムでの未利用あるいは利用程度の低い海藻資源の調査を行った。

早稲田大学グループは、3種類の褐藻(*Ecklonia kurome*(クロメ)、*Ecklonia cava*(カジメ)、*Eisenia bicyclis*(アラメ))の表面付着性細菌からメタゲノムライブラリーを作成し、アルギン酸分解酵素であるアルギン酸リアーゼのスクリーニングを行った。また、*in silico*解析の結果から、今回取得したクローンから新規エンド型酵素を含め、エキソ型酵素も多数同定した。更に、メタゲノムライブラリーからのスクリーニングに加え、海藻分解細菌の単離培養も行い、単離した細菌のうち、新規と思われる細菌、*Falsirhodobacter* sp. alg1からアルギン酸リアーゼのエキソ型の遺伝子を獲得し、獲得したエキソ型酵素の遺伝子は京都大学グループに提供した。

大阪大学グループは、貴金属ナノ粒子やカーボンナノチューブなどを電極に用いたバイオ燃料電池を構築し、アルギン酸、フコース、フロロタンニン、クロメ乾燥粉末など大型褐藻類由来のバイオマス材料を電気エネルギーや有用資源に変換する技術の開発に取り組んだ。各材料に対する電気化学特性の評価・解析をもとに電極構造を最適化し、アルギン酸や乾燥クロメ粉末溶液から直接電気エネルギーを取り出すことに成功した。光触媒特性を示す酸化チタンナノ粒子を修飾した電極を用いて、光照射によるアルギン酸燃料電池の電力特性の向上を実現し、自然エネルギーである太陽光がバイオ燃料電池の特性向上に利用できる可能性を示した。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

- 1 Miki Ota, Hiroshi. Sakuragi, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, “Display of *Clostridium cellulovorans* xylose isomerase on the cell surface of *Saccharomyces cerevisiae* and its direct application to xylose fermentation”, Biotechnology Progress, vol. 29, No. 2, pp.346-351, 2013 (DOI: 10.1002/btpr.1700)
- 2 Nao Nishida, Naoki Ozato, Ken Matsui, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “ABC transporters and cell wall proteins involved in organic solvent tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*”, Journal of Biotechnology, vol. 165, No. 2, pp.145-152, 2013 (DOI: 10.1016/j.jbiotec.2013.03.003)
- 3 Natsuoko Miura, Masahiko Shinohara, Yohei Tatsukami, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Spatial reorganization of yeast enolase to alter carbon metabolism under hypoxia”, Eukaryotic Cell, vol. 12, No.8, pp. 1106-1119, 2013 (DOI: 10.10.1128/EC.00093-13)
- 4 Atsushi Satomura, Yoshiaki Katsuyama, Natsuoko Miura, Kouichi Kuroda, Takeshi Bamba, Eiichiro Fukusaki, Mitsuyoshi Ueda, “Acquisition of thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* by breeding via stepwise adaptation”, Biotechnology Progress, vol. 29, No. 5, pp.1116-1123, 2013 (DOI: 10.1002/btpr.1754)
- 5 Kazuma Matsui, Jungu Bae, Kohei Esaka, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Exoproteome profiles of *Clostridium cellulovorans* on various carbon sources”, Applied and Environmental Microbiology, vol. 79, No. 21, pp. 6576-6584, 2013 (DOI:10.1128/AEM.02137-13)
- 6 Yohei Fujii, Reiji Tanaka, Hideo Miyake, Yutaka Tamaru, Mitsuyoshi Ueda, Toshiyuki Shibata, “Evaluation for Antioxidative Properties of Phlorotannins Isolated from the Brown Alga *Eisenia bicyclis*, by the H-ORAC Method”, Food and Nutrition Sciences, vol. 4, No. 8A (Special Issue on Antioxidant Research in Food Science), pp.78-82, 2013 (DOI:10.4236/fns.2013.48A010)
- 7 Toshiyuki Shibata, Taiko Miyasaki, Hideo Miyake, Reiji Tanaka, Shigeo Kawaguchi,

“The Influence of Phlorotannins and Bromophenols on the Feeding Behavior of Marine Herbivorous Gastropod *Turbo cornutus*”, American Journal of Plant Sciences, vol. 5, No. 3, pp.387-392, 2014 (DOI:10.4236/ajps.2014.53051)

- 8 Le Quynh Hoa, Mun'delanji C. Vestergaard, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito and Eiichi Tamiya, “Optimization of functionalized carbon nanotube matrices for enhanced ethanol oxidation reaction ”, Journal of the Electrochemical Society, vol. 160, No. 7, pp.G3062-G3068, 2013 (DOI: 10.1149/2.010307jes)

- 9 Le Quynh Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Mitsuyoshi Ueda, Toshiyuki Shibata, and Eiichi Tamiya, “Direct Energy Extraction from Brown Macroalgae-Derived Alginate by Gold Nanoparticles on Functionalized Carbon Nanotubes”, ChemCatChem, vol. 6, pp.135-141, 2013 (DOI: 10.1002/cctc.201300531)

- 10 Le Q. Hoa, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito and Eiichi Tamiya, “Functionalized Carbon Nanotube Matrix for Inducing Noncovalent Interactions toward Enhanced Catalytic Performance of Metallic Electrode”, MRS Proceedings, vol. 1549, pp.135-140, 2013 (DOI: 10.1557/opl.2013.685)