

「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

H26 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

1. 褐藻類を構成する多糖類と糖アルコールの定量分析
2. 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
3. 褐藻類に対する *C. cellulovorans* の網羅的遺伝子発現解析
4. 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

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、講師)

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(三重大と九大)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京大と三重大のソフトバイオマス分解微生物 *Clostridium cellulovorans* の遺伝子特許を活用して、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いる。この酵素群を選択するために、*C. cellulovorans* タンパク質プロファイルを新規開発のモノリス LC/MS 解析(Esaka et al., AMB Express, 5, 2 (2015))と過去の文献調査で大型藻類を全滅(完全分解)させた微生物 *Saccharophagus degradans* の分子情報から、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を試み成功し、これらの酵素遺伝子の発現実験を行っている。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つつある。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つつある電極で確保していく。

具体的な成果として、下記にまとめる。

<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もとに、高機能分子の探索とともに、陸上バイオマスでこれまで日本が失敗してきた資源の確保を海洋バイオマスへの転換で実現する。さらに、新たに養殖資源の作出のためにアラメの種苗にも取り組み、日本の海洋バイオマス資源の増大をめざし、細胞工学的技術展開への応用が期待できた。

<京大と早稲田大グループ>

細胞表層工学の活用と合成生物学による代謝工学の融合による新しいエキスパート触媒の作製に成功しつつあり、大型藻類の成分のなかでも、難分解性アルギン酸(ポリマー)を「直接」分解できる生体触媒は、世界初のアルギン酸(ポリマー)からエタノールを「直接」作製できるエキスパート触媒である。さらに、大型藻類の全成分からエタノールを「直接」作製できるエキスパート触媒の作製に、細胞表層工学の活用とメタゲノム探索や合成生物学による代謝工学の融合の戦略が重要である。これにより、酵母でブタノールも生産したり(Sakuragi et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 79, 314-320 (2014))、大型藻類に貯留されているウランやレアメタルを選択的に吸着回収できる(Kuroda et al., Biomolecules, 4, 390-401 (2014))エキスパート触媒に成功しており、この戦略の実効性の実証ができた。

<阪大グループ>

開発したナノ構造電極を組込んだ燃料電池を構築して、実際にアルギン酸や、三重大グループが作製した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。本研究成果は、食料と競合しない褐色藻類バイオマスを、外部からのエネルギーを必要とせず、電気エネルギーや有用材料に変換する新しい道筋を示した。

【主要論文】

- Kohei Esaka, Shunsuke Aburaya, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Exoproteome analysis of *Clostridium cellulovorans* in natural soft-biomass degradation”, *AMB Express*, vol. 5, No. 1, 2, 2015 (DOI: 10.1186/s13568-014-0089-9)
- Hiroshi Sakuragi, Hironobu Morisaka, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda, “Enhanced butanol production by eukaryotic *Saccharomyces cerevisiae* engineered to contain an improved pathway”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 79, No. 2, pp. 314-320, 2014 (DOI:org/10.1080/09168451.2014.972330)
- Kouichi Kuroda, Kazuki Ebisutani, Mitsuyoshi Ueda, “Enhanced adsorption and recovery of uranyl ions by NikR mutant-displaying yeast”, *Biomolecules*, vol. 4, pp. 390-401, 2014 (DOI: doi: 10.3390/biom4020390)