

未来社会創造事業 探索加速型  
「地球規模課題である低炭素社会の実現」領域  
年次報告書(探索研究)

H30 年度 研究開発年次報告書
---------------------

平成 29 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：小俣 達男]

[名古屋大学 大学院生命農学研究科・教授]

[研究開発課題名：ミルキング法によるバイオ燃料生産の高効率化と安定化]

実施期間：平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

## §1. 研究開発実施体制

### 【記載例】

#### (1)「小俣」グループ(名古屋大学)

① 研究開発代表者:小俣 達男(名古屋大学 大学院生命農学研究科、教授)

#### ② 研究項目

- ・遺伝子操作技術を駆使した光耐性 FFA 生産株の育種
- ・内在リパーゼ遺伝子の探索
- ・FFA 生産株に由来する強光耐性自然変異株の変異遺伝子の同定

#### (2)「西山」グループ(埼玉大学)

① 主たる共同研究者:西山 佳孝(埼玉大学 大学院理工学研究科、教授)

#### ② 研究項目

- ・強光耐性に関わる遺伝子変異のマーカーレスな導入法の開発
- ・FFA 高生産変異株の強光耐性の評価
- ・強光耐性に関わる新規遺伝子の探索

#### (3)「愛知」グループ(中部大学)

① 主たる共同研究者:愛知 真木子(中部大学 応用生物学部、准教授)

#### ② 研究項目

- ・外来チオエステラーゼを用いない光耐性 FFA 生産株の育種(PCC6803 株)
- ・強光耐性を指標にした FFA 高生産変異株の探索
- ・有用遺伝子変異のマーカーレスな導入法の開発

#### (4)「池田」グループ(理化学研究所)

① 主たる共同研究者:池田 和貴(理化学研究所 統合生命医科学研究センター、副チームリーダー)

#### ② 研究項目

- ・FFA とリゾ脂質の定量・定性解析

## §2. 研究開発実施の概要

微細藻類は本来、弱光環境に棲息する生物であり、それらを利用したバイオ燃料生産は、太陽からの強光を十分に利用できないばかりか、過剰な光エネルギーによる阻害(光阻害)のために効率低下に悩むのが一般的である。我々は、高い脂肪酸合成活性を有するラン藻 *Synechococcus elongatus* を利用し、バイオ燃料の原料となる遊離脂肪酸 (FFA)を継続的に細胞外に放出させ

て回収する「ミルク方式」でバイオ燃料を生産することを目指しているが、この方式では、細胞を殺して燃料物質を抽出する従来方式と異なり、1) 生きた細胞を継続的に利用することで培養コストを低減し、2) 細胞容積による生産量の制約を回避し、3) さらに FFA の大量生産と放出に光エネルギーを有効活用して余剰光エネルギーの蓄積を防ぐことで光阻害の回避を期待できる。ただし、FFA が細胞内に蓄積すると毒性が現れるので、FFA の生産量が放出量を上回らないようバランスを保つことが肝要であり、これらを考慮しつつ昨年度までに  $180 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の連続光条件下での継続的な FFA 放出に成功していた。本年度は、細胞外へ FFA を排出する輸送タンパク質を過剰発現するとともに、12 h の暗期をもつ 12L/12D の日周サイクルを与えることで FFA の細胞内蓄積の害を低減し、明期の短縮による生産性の低下を最小限に抑えつつ、太陽の最大光強度の約3分の1に相当する  $700 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の強光条件下で10日間以上安定して FFA を生産、放出させることに成功した。また、強光条件下で生成する活性酸素(ROS)に起因する光傷害を防ぐため、ROS 除去系を構成するタンパク質群を導入することによっても、FFA 生産株の強光耐性を強化できることを実証した。