

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
終了報告書(探索研究期間)

令和3年度
研究開発終了報告書

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]

[所属 名古屋大学大学院生命農学研究科・特任教授]

[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 29 年 11 月 1 日～令和 4 年 3 月 31 日

§ 1. 研究実施体制

(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、特任教授)

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レスな導入法の開発

(4)「池田」グループ(かずさ DNA 研究所)

① 主たる共同研究者:池田 和貴(かずさ DNA 研究所ゲノム事業推進部 臨床オミックス解析グループ、主任研究員)

② 研究項目

- ・FFA とリゾ脂質の定量・定性解析

(5)「斎藤」グループ(大成建設)

① 主たる共同研究者:斎藤 祐二(大成建設技術センター、室長)

② 研究項目

- ・FFA 生産株の培養条件の最適化と FFA 回収・分離手法の確立
- ・FFA 生産株の培養液からの FFA 回収・分離手法の確立

§ 2. 研究実施の概要

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障害の回避を期待できる。ただし、
FFA が細胞内に蓄積すると深刻な光障害が起こるので、FFA の生産量が放出量を上回らないようバランスを保
つことが肝要である。本研究開始時までに $180 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の連続光条件下で $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ の FFA 生
産を達成していたが、当時の株はそれ以上の光強度には耐えることができなかった。本研究では、FFA の生産
が明期に限られるのに対して細胞からの FFA 排出が明暗の両方で行われることを利用して、12 時間周期の明
暗サイクルを適用して FFA の細胞内蓄積を防ぎ、さらに活性酸素(ROS)を消去するタンパク質群を FFA 生産
株に導入して ROS に起因する光傷害を低減することで、 $1,000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の強光条件下で 14 日間の
安定した FFA 生産を実現し、明期1時間あたり $4.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ の高い FFA 放出速度を5日間にわたって維持す
ることに成功した。