

海洋資源から安全保障エネルギーを獲得できるスマート細胞の構築に成功 —バイオテクノロジーとデジタル融合の新しい展開—

概要

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻 植田充美教授、黒田浩一 准教授、高木俊幸 博士課程学生(学振研究員、現在は東京大学大気海洋研究所助教) は、京都市産業技術研究所・京都バイオ計測センターとの共同研究により、世界第6位の排他的経済水域をもつ日本で、「養殖可能な大型褐藻類」という特徴的な水圏バイオマスを原料にして、「エネルギー生産の新たなサステナブルプラットフォームの形成」を提唱しました。本研究では、大型の海藻からバイオエネルギーを容易に生産できる酵母の育種に成功し、このプラットフォームの有効性を実証しました。これは、細胞表層工学、合成生物化学技術による代謝工学、ならびにトランスオミクス解析とそのビッグデータの情報処理という、バイオテクノロジーとデータサイエンスを融合した新しい研究により実現したものです。

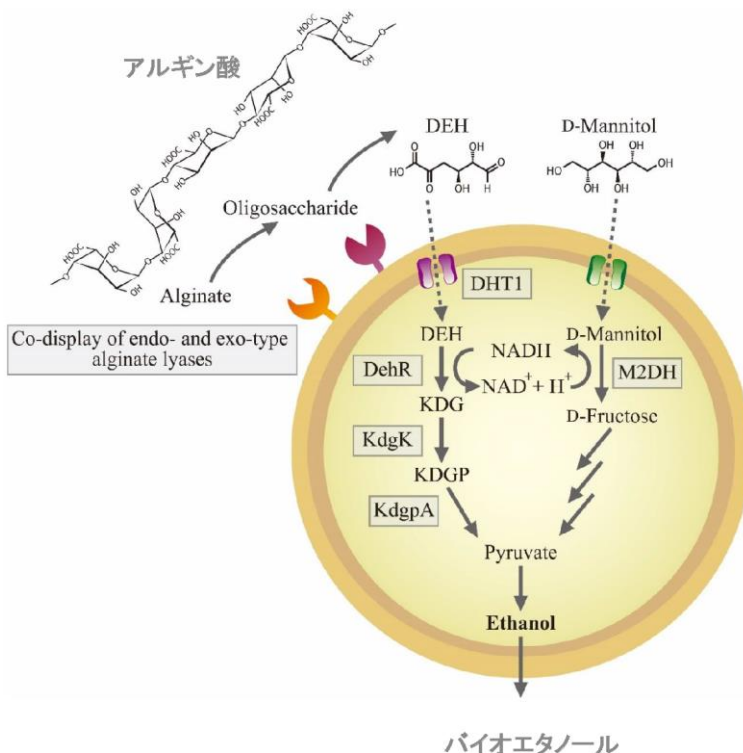
本研究は、2018年1月18日に科学技術振興機構（JST）の技術説明会で最先端技術として公開されました。既発表の関連論文については本資料末尾をご参照ください。

配偶体から種系作製



沖だし養殖クロメ

(熊本県水産研究センター、天草漁協・五和支所)



1. 背景

現在、二酸化炭素の排出量を減少させて地球温暖化を抑制するために、石油などの化石燃料に依存する「オイルリファイナリー」から、バイオマス为原料とする「シュガープラットフォーム」への転換が重要になっています。ところが、日本では、国土面積が狭いために陸上植物をバイオマスの原料とするには限界があります。そのため技術開発と移転が中心となり、原料の供給は海外の豊富な陸上バイオマスに依存せざるを得ませんでした。

そこで、本研究では、日本の持つ世界第6位という広大な排他的経済水域に着目しました。この水域で「養殖可能な大型褐藻類」という特徴的な水圏バイオマス为原料に使えば、「新たなサステイナブルプラットフォームの形成」を提唱することができます。これを実証するために、大型海藻からバイオエネルギーを容易に生産できる、細胞内代謝に負荷の少ないスマートな（機能的な）酵母細胞触媒の育種に挑戦しました。

2. 研究手法・成果

本研究は、日本で養殖可能で、生育コストが小さく、生育速度の速い非可食性クロメ（海藻の一種：図1）の完全資化（分解）によるエネルギー化（ここではバイオエタノールへの変換）を目指しました。その際、我々が世界に先駆けて開発してきた細胞表層工学に加え、米国エネルギー省との熾烈な競争の未獲得した、ソフトバイオマス分解においては陸上最強と言われる微生物 *Clostridium cellulovorans* のゲノム情報特許も活用しました。クロメには、陸上植物に特有なリグニンが存在せず、その多糖類成分として、陸上植物と似たセルロースとヘミセルロース、大型藻類を特徴づけるアルギン酸、マンニトール、ラミナランが存在します。特に、後者の3つの多糖類は季節変動が大きいので、柔軟に対応できる細胞触媒の創製が重要となります。

この細胞触媒を作るため、はじめに、1980年代にアメリカで大型藻類（ジャイアントケンブ）を全滅（完全分解）させた微生物 *Saccharophagus degradans* について、過去の文献をもとに分子情報の解析を目指しました。この際、日本で養殖されている非可食性クロメについて、この微生物による分解のプロテオーム解析を試みました。我々がベンチャー企業と共同で開発してきたモノリスキャピラリーカラムを装備したナノLC/MS/MS解析装置を用いて、この大型藻類の分解酵素タンパク質のプロファイル（全体の構成）を解明しました。ゲノム情報を基にして、得られた情報から、この非可食大型藻類の分解代謝系を明らかにできました。

このプロテオーム解析により、上記の多糖類すべてを分解して、バイオエタノールに変換するスマートな細胞触媒として以下のものが考えられます。まずセルロースとヘミセルロース成分に関しては、すでに陸上バイオマスバイオエタノールに変換できることが知られている酵母が、そのまま利用できることが判明しました。また、ラミナランを分解する酵素についても上記の解析データから酵母が使用できることが判明しました。したがって、多糖類をバイオエタノールに変換できる細胞触媒を構築する基盤は、エタノールを生産する酵母を基にして作成できることが判明しました。

次に、大型海洋藻類を特徴づけるアルギン酸を資化できる酵母の育種例は存在しないため、その直接資化は最難関でした。我々は細胞表層工学の利点を用いて、細胞の表層で難分解性の高分子アルギン酸を分解し、単糖化して細胞内に取り込ませて代謝資化できる系を、合成生物工学的手法と代謝工学の戦略を用いて構築しました（図2）。

まず、定量プロテオーム解析によって、*S. degradans* が持つ約4,000個の遺伝子のうち、アルギン酸存在

下で発現している 987 個のタンパク質の同定に成功しました。これをグルコース存在下でのタンパク質の生産を統計的に比較を行ったところ、*S. degradans* がアルギン酸に限って生産しているアルギン酸リアーゼについて、アルギン酸をオリゴアルギン酸に分解する Endo 型活性と、単糖 DEH まで分解する Exo 型活性を示す 2 種のアルギン酸リアーゼを用いていることが判明しました。そこで、これら 2 種のアルギン酸リアーゼを細胞表面工学の技術で提示し、アルギン酸を細胞表面で単糖にまで分解できる酵母の作製に成功しました。次に、その単糖を酵母に取り込み、エネルギーに代謝する代謝酵素群を細胞内に生産する必要があります。そこで、そのような生産を可能にする合成生物工学的細胞工場となる細胞、すなわち、細胞内の代謝に負荷をかけないスマートなセルファクトリーの構築を目指しました。*S. degradans* がアルギン酸に限って生産していたトランスポーター（細胞膜を通して物質を輸送するタンパク質）、単糖 DEH を 2-Keto-3-deoxy-D-gluconate (KDG) に変換する DEH 還元酵素 (DEH Reductase : DehR)、KDG を 2-Keto-3-deoxy-6-phosphogluconate (KDGP) に変換する KDG キナーゼ (KDG Kinase : KdgK、キナーゼはリン酸化酵素)、KDGP をピルビン酸に変換する Kdgp アルドラーゼ (Kdgp Aldolase : KdgpA、アルドラーゼは酸素を利用せずに糖を分解する酵素) の代謝系を酵母内に作成することで「アルギン酸単糖 DEH→KDG→KDGP→ピルビン酸」という一連の代謝の流れを酵母内に構築することが可能になります。その過程で、細胞の導入代謝系によって酸化・還元バランスが崩れ、細胞に負荷をかけることが判明しましたので、酵母に、もう一つの多糖類であるマンニトールを順応資化させることにより、細胞内での酸化・還元バランスの崩壊を解消した、いわゆるスマート細胞触媒 (図 2) の創製に成功しました。

本研究で開発したスマート細胞触媒によって、日本で養殖できる海藻 (非可食性クロメ) からバイオエタノールを生産する道筋が開かれました。海洋インフラの整備と必要労働力の確保によって、日本で非可食性クロメの養殖可能な藻場が 30 万 km² 確保できれば、北洋、南洋系の大型藻類と合わせて推算すると、生産されるバイオエタノールは石油の年間消費量に迫る値になることが判明しました。

3. 波及効果、今後の予定

高付加価値化学品を製造する次世代バイオプロダクト製造工場の建設など、従来の石油コンビナート (バイオコンビナート化) と連携すれば、地方沿岸地域に地方創生のための「バイオコミュニティ」が実現でき、農林水産業の活性化と廃棄物のリサイクルの共役した、日本の新しい社会構造を提言できると考えています。また、本研究成果が、将来の日本のエネルギーの多様化と、エネルギーの安全保障の問題を考える契機になれば幸いです。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、JST 戦略的創造研究推進事業 (CREST) 研究課題「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」(総括: 松永是) の「藻類完全利用のための生物学技術の集約」(代表: 植田充美) の支援を受けて行われました。

<用語解説>

海洋藻類：海洋藻類は、海面からの深度に従い、上層から、緑藻、紅藻、褐藻の3種に区別できる。褐藻では、コンブ、ワカメやホンダワラが食用で有名であるが、養殖可能な大型藻類としては、クロメやアラメなども存在する。栄養が行き渡る海洋を培地として、種苗の設置のみで、半年で大型に生育するという利点がある。陸上植物の利用を妨げている表面を覆っているリグニンは存在しない。

資化：微生物が、ある物質を栄養源として分解利用し増殖すること。

トランスオミクス解析：ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム解析の組み合わせ。

プロテオーム解析：すべてのタンパク質を網羅的に解析すること。

モノリスキャピラリーナノ LC/MS/MS：京都のベンチャー企業「株式会社京都モノテック」が開発した「モノリスキャピラリーカラム」を装備した高速液体クロマトグラフィーを質量分析機を連結したプロテオームやメタボローム解析装置。

<関連論文のタイトルと著者>

- 植田充美—JST 戦略的創造研究推進事業—新技術説明会（2018年1月18日）
https://shingi.jst.go.jp/kobetsu/kisoken/2017_kisoken2.html
- タイトル：Construction of bioengineered yeast platform for direct bioethanol production from alginate and mannitol（2017年7月24日にオンライン公開済）
著者：T. Takagi, K. Kuroda, M. Ueda et al.
掲載誌：Applied Microbiology and Biotechnology DOI：10.1007/s00253-017-8418-y
- タイトル：Platform construction of molecular breeding for utilization of brown macroalgae（2017年9月3日にオンライン公開済）
著者：T. Takagi, K. Kuroda, M. Ueda
掲載誌：Journal of Bioscience and Bioengineering DOI：10.1016/j.jbiosc.2017.08.005

アラメ属・カジメ属大型褐藻類

研究対象種

天然藻体を確保しやすい

多年生の大型褐藻類
 アラメ(藻長: 1~2m, 寿命: 4~6年)
 サガラメ(藻長: 1~2m, 寿命: 7~8年)
 カジメ(藻長: 2~3m, 寿命: 3~4年)


全国(北海道, 東北の一部を除く)に分布している
 群落を構成するため, 個体密度が高い(生産量が高い)
 食用の用途と競合しない

養殖技術が確立されている

約10ヶ月で藻長2mの藻体を確保出来る
 洗浄, 乾燥, 粉碎の工程でコストがかからない

稀少な有用メタボライトを持つ

フロロタンニン類(海藻ポリフェノール類)を持つ
 フロロタンニン類を含む細胞
 その他の褐藻類にはない
 フロロタンニン抽出液の
 市場価格: 25,000円(kg)



アラメ属褐藻類: アラメ・サガラメ
 カジメ属褐藻類: カジメ・クロメ
 ツルアラメ

藻類バイオリファインリーの原料に適している

図1

スマート細胞ーアルギン酸とマンニトールの同時資化能力(酸化・還元インバランスの解消)

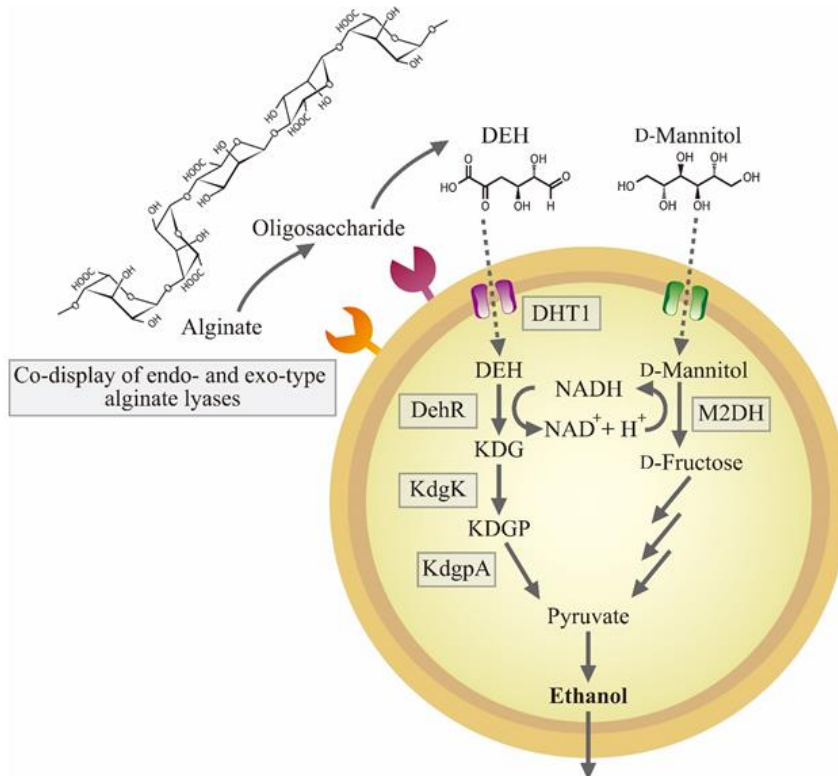


図2