

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(探索研究期間)

令和2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]

[国立大学法人東海国立大学機構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：令和2年4月1日～令和3年3月31日

## §1. 研究開発実施体制

### (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、特任研究員)

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「ミルクィング方式」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る。昨年度は、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、ROS に起因する光傷害を低減することで1日24時間、 $700 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ の連続強光条件下で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。今年度はこの株に対して12時間周期の明暗サイクルを適用し、1日あたりの FFA 生産量を制限することで FFA の細胞内蓄積を回避した結果、 $1,000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 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  $4.5 \text{ mg L}^{-2} \text{ h}^{-1}$ 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。