

革新的環境技術シンポジウム2018
～長期低排出発展戦略の実現に向けたイノベーションの推進～
2018年12月19日

持続可能な社会の実現を目指した グリーンバイオプロセスの開発

公益財団法人地球環境産業技術研究機構(RITE)
バイオ研究グループ／グループリーダー、主席研究員

乾 将行

Presentation Outline

1	はじめに	<ul style="list-style-type: none">・SDGs、バイオエコノミーの紹介
2	研究開発	<ul style="list-style-type: none">・バイオ燃料; バイオジェット燃料生産・バイオ化学品; 芳香族化合物生産
3	国家プロジェクト	<ul style="list-style-type: none">・NEDOスマートセル・SIP戦略的イノベーション
4	実用化事業	<ul style="list-style-type: none">・GEI (Green Earth Institute(株))・GCC (グリーンケミカルズ(株))
5	終わりに	<ul style="list-style-type: none">・まとめと今後の展開

持続可能な開発目標 (SDGs)

2015年9月の国連サミットで全会一致で採択。先進国を含む国際社会全体の開発目標として、2030年を期限とする包括的な17の目標を設定。前身は2000年の「国連ミレニアム宣言」。発展途上国の目標に追加された、先進国を含む国際社会全体の目標。

SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS
世界を変えるための17の目標

バイオテクノロジーが貢献すべき目標は
17項目中10項目以上

The Global Goals for Sustainable Development (SDGs)



Bioeconomy

バイオテクノロジーと再生可能な生物資源を活用して 地球規模での課題を解決しながら経済成長を図る

- OECDは、2030年のバイオ市場は**GDPの2.7%**
(約1.6兆ドル(約200兆円))に成長と予測。
- **工業分野の割合が40%。**

The Bioeconomy to 2030. OECD(2009)
<http://www.oecd.org/>

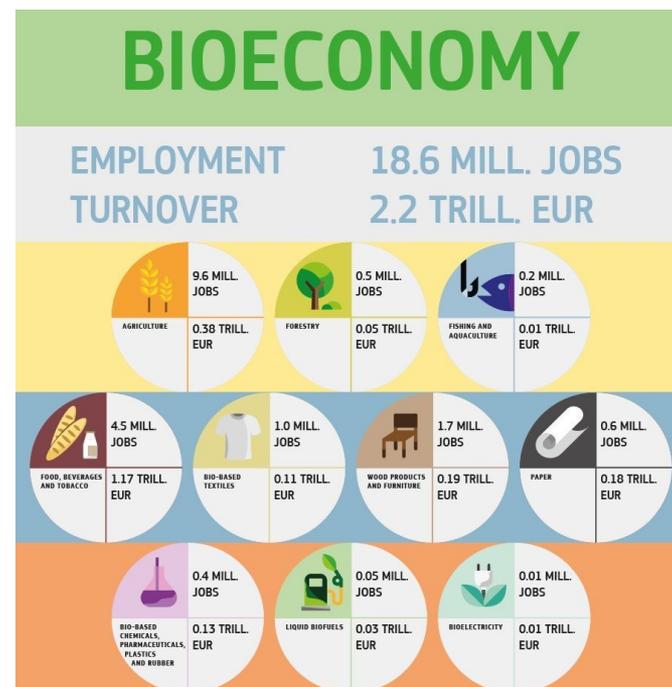


19-20 April 2018, Berlin, Germany

<http://gbs2018.com/home/>



グローバルバイオエコノミーサミットの開催(GBS)
2018年4月ベルリン(独)



2016 Bioeconomy Report (European Commission)

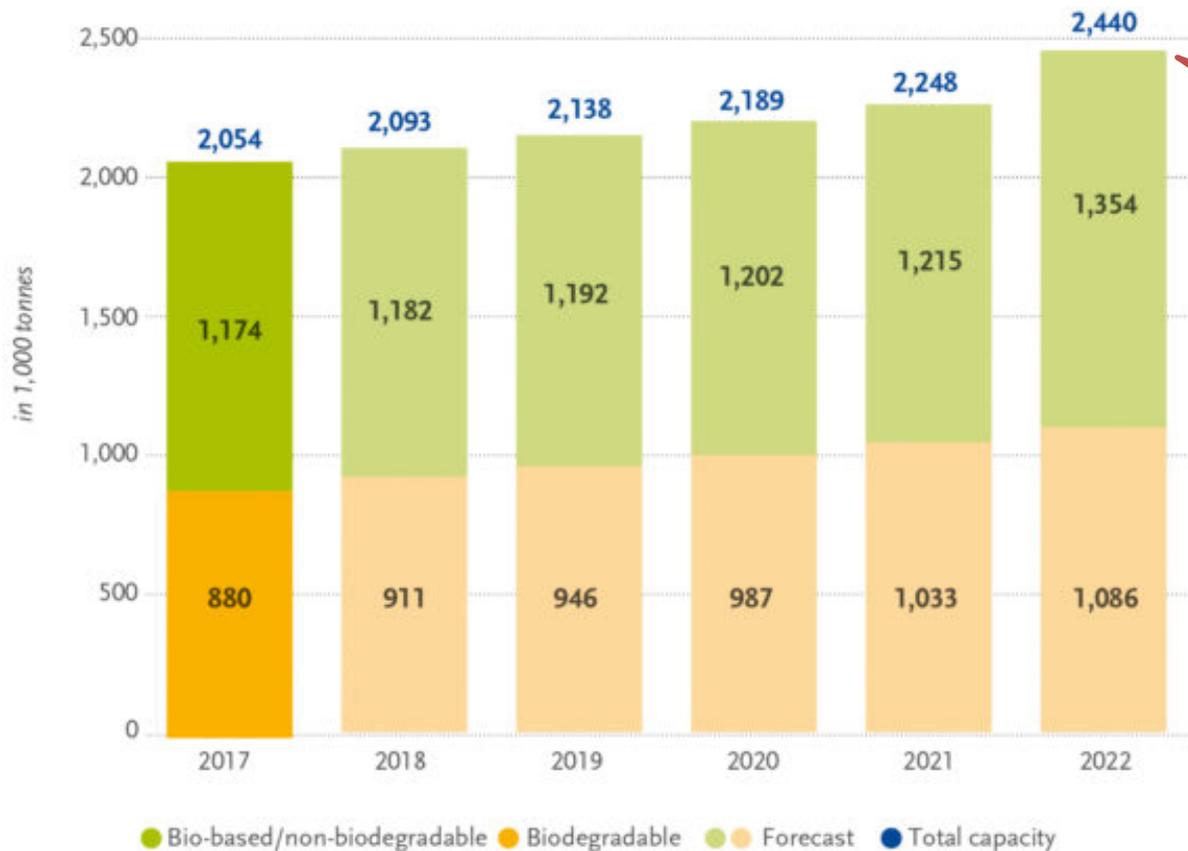
2014年にEUで2.2兆€の売上高

農林業・漁業・食品・バイオ化学品・衣料・木製品
工業・製紙・医薬品・燃料・バイオ発電分野など

<https://www.european-bioplastics.org/european-commission-2016-report-on-the-bioeconomy/>

バイオものづくりの市場拡大

Global production capacities of bioplastics



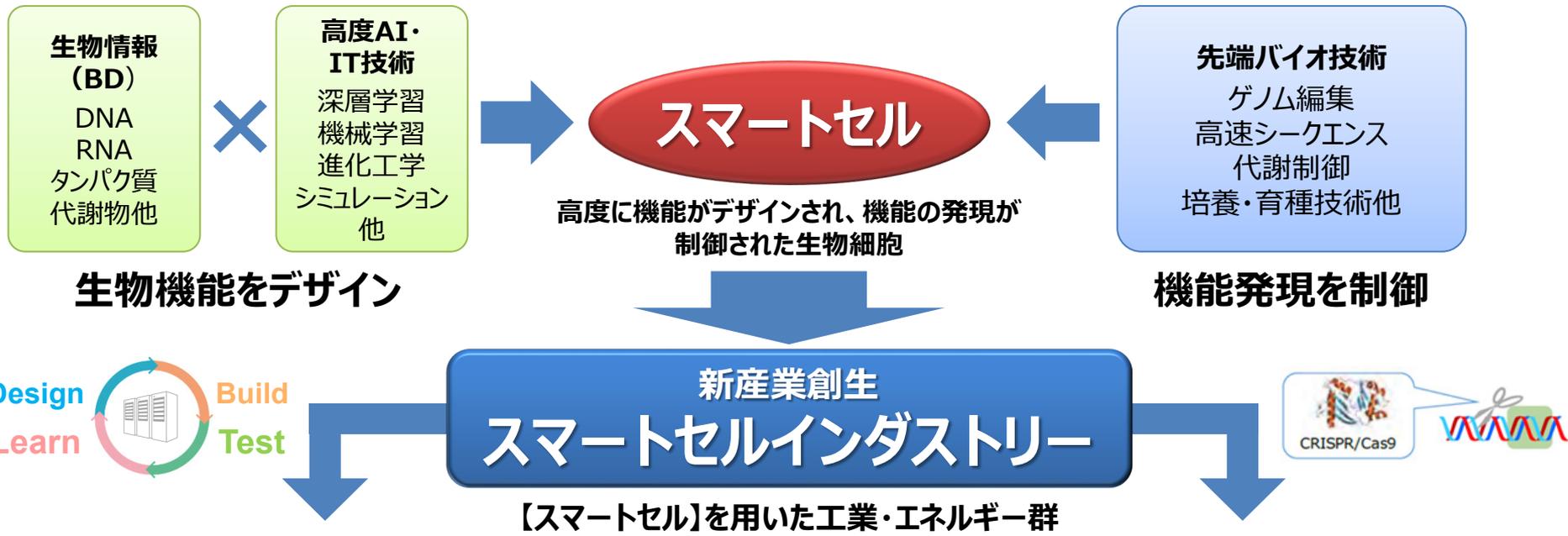
バイオプラスチックの生産量は2022年までに2017年の20%増まで拡大(244万トン)

Source: European Bioplastics, nova-Institute (2017).

More information: www.bio-based.eu/markets and www.european-bioplastics.org/market

出典: <http://natureplast.eu/en/evolution-bioplastics-market/>

バイオ×デジタルが変える工業／エネルギー分野



工業(ものづくり)

再生可能資源利用・省エネルギー

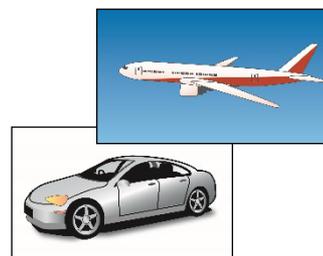


バイオ化学品

バイオプラスチック
バイオ繊維・高機能化学品
バイオエンブラ・香料原料
医薬品・医薬品中間体など

エネルギー

化石資源からの脱却



バイオ燃料

バイオエタノール
バイオジェット燃料
バイオディーゼル
バイオガスなど

増殖非依存型バイオプロセスの概念図

RITE Bioprocess®

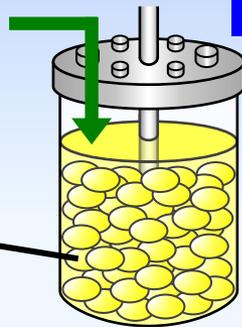
反応槽に微生物を高密度充填し反応

混合糖完全同時利用可

C5, C6糖

発酵阻害
物質耐性

菌体触媒
(増殖なし)



高生産性

生産物
バイオ燃料
バイオ化学品

特許 JP3869788 DE602004026192.0 JP4927297
JP4451393 DK1647594 US7598063
US7368268 FR1647594 EP1291428
EP1647594 GB1647594 JP4294373
CH1647594

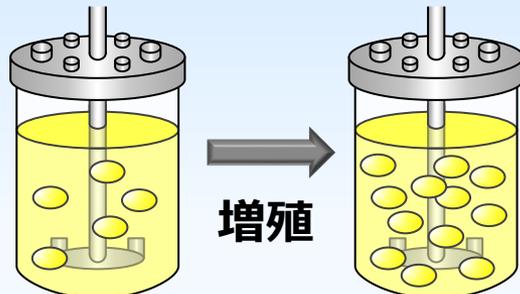
微生物が増殖しないため、

- 増殖のためのエネルギーロスがなく、原料収率が高い。
- システムが簡便。

* RITE Bioprocessは、公益財団法人地球環境産業技術研究機構の登録商標(登録第5796262号)です。

従来の発酵法

微生物が増殖しながら物質を生成



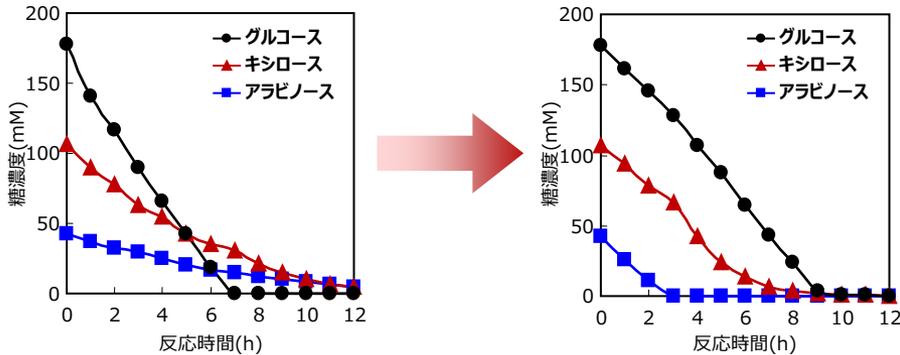
- 微生物が増殖するため、スペースが必要であり巨大な反応槽が必要。
- 生産(反応)時間は微生物の増殖に依存。

非可食バイオマスを原料とする必須要素技術の基礎確立

混合糖完全同時利用

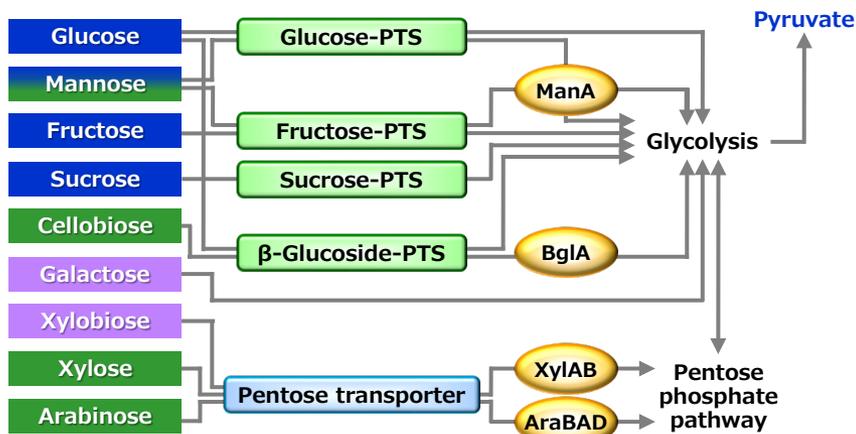
ペントーストランスポーターの導入による混合糖同時利用能の向上
(増殖非依存型バイオプロセス(RITE Bioprocess®))

Pentose transporter 遺伝子(*araE*) 導入



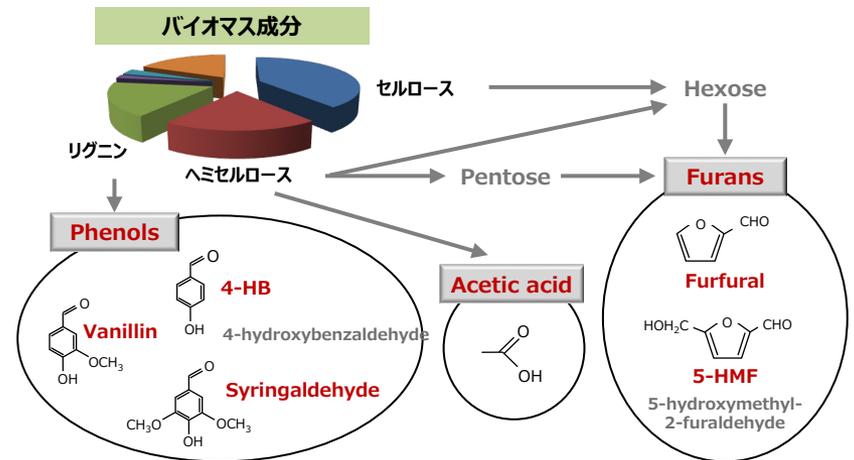
RITE論文: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**:105-115. 2009.

C. glutamicum R株による糖代謝利用能



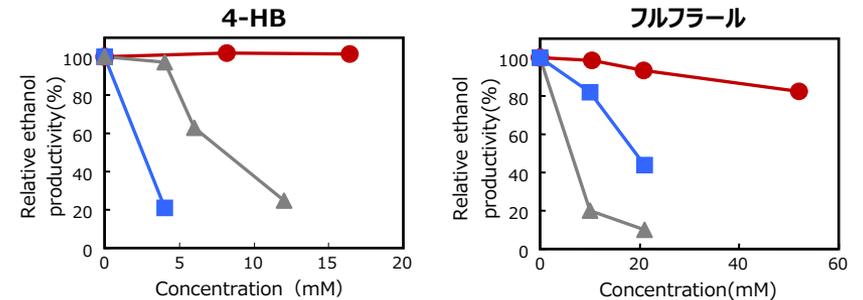
発酵阻害物質耐性

バイオマス由来の発酵阻害物質



E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal. *Bioresource Technology* **74**:25-33. 2000. より改変

増殖非依存型バイオプロセス(RITE Bioprocess®)の発酵阻害物質に対する耐性



RITE論文: *Appl. Environ. Microbiol.* **73**:2349-2353. 2007.

● RITE Bio-Process ■ ザイモナス菌 ▲ アルコール酵母

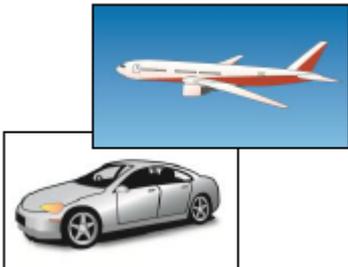
Product portfolio by RITE Bioprocess®

(1) バイオ燃料

- ガソリン混合・代替
 - ・エタノール

- バイオジェット燃料
 - ・イソブタノール
 - ・n-ブタノール
 - ・100%グリーンジェット燃料
〔C9~C15飽和炭化水素
+ 芳香族化合物〕

- バイオ水素



(2) グリーン化学品

- 芳香族化合物
 - ・シキミ酸 (インフルエンザ治療薬タミフル原料)
 - ・フェノール (フェノール樹脂、ポリカーボネート)
 - ・4-ヒドロキシ安息香酸 (ポリマー原料)
 - ・アニリン (石油外天然資源タイヤ原料(老化防止剤))

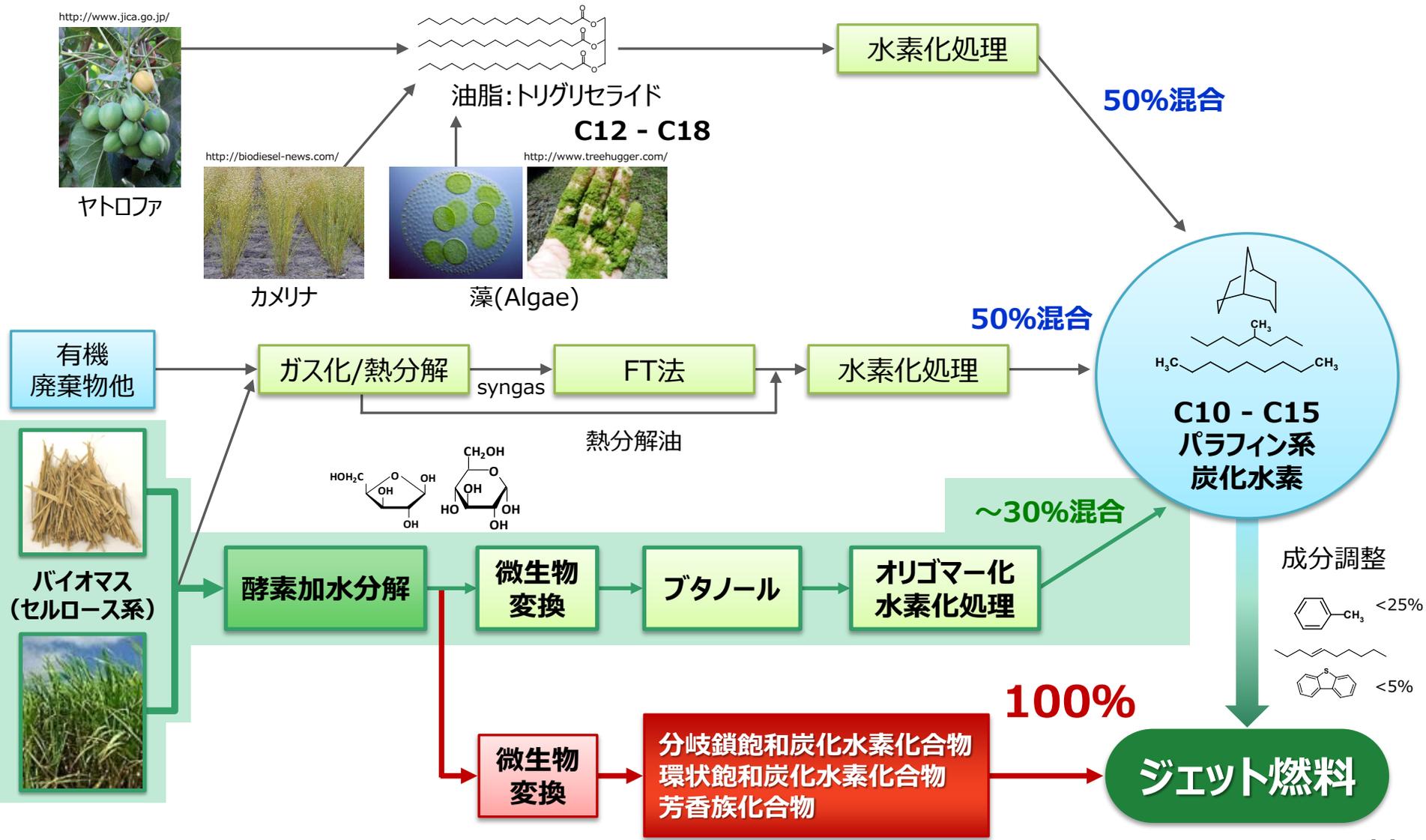
- 有機酸
 - ・D-乳酸、L-乳酸 (ステレオコンプレックス型ポリ乳酸)
 - ・コハク酸

- アミノ酸
 - ・アラニン (キレート剤)
 - ・バリン (次世代飼料用アミノ酸、医薬品原料、食品)
 - ・トリプトファン (飼料用アミノ酸、医薬品原料、飲料)
 - ・メチオニン (飼料用アミノ酸、調味料)

- アルコール
 - ・イソプロパノール (プロピレン原料)
 - ・キシリトール (甘味料)

バイオ燃料 生産技術の開発

2020年 東京オリンピックでの導入を目指して



バイオブタノール製造技術

原料バイオマス

製造技術 (微生物変換)

METI「国際共同研究開発プロジェクト(H27~31年)」

オリゴマー化

非可食バイオマス



食糧系バイオマス

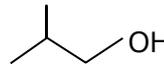


RITE



Butamax
Gevo

Isobutanol



n-Butanol

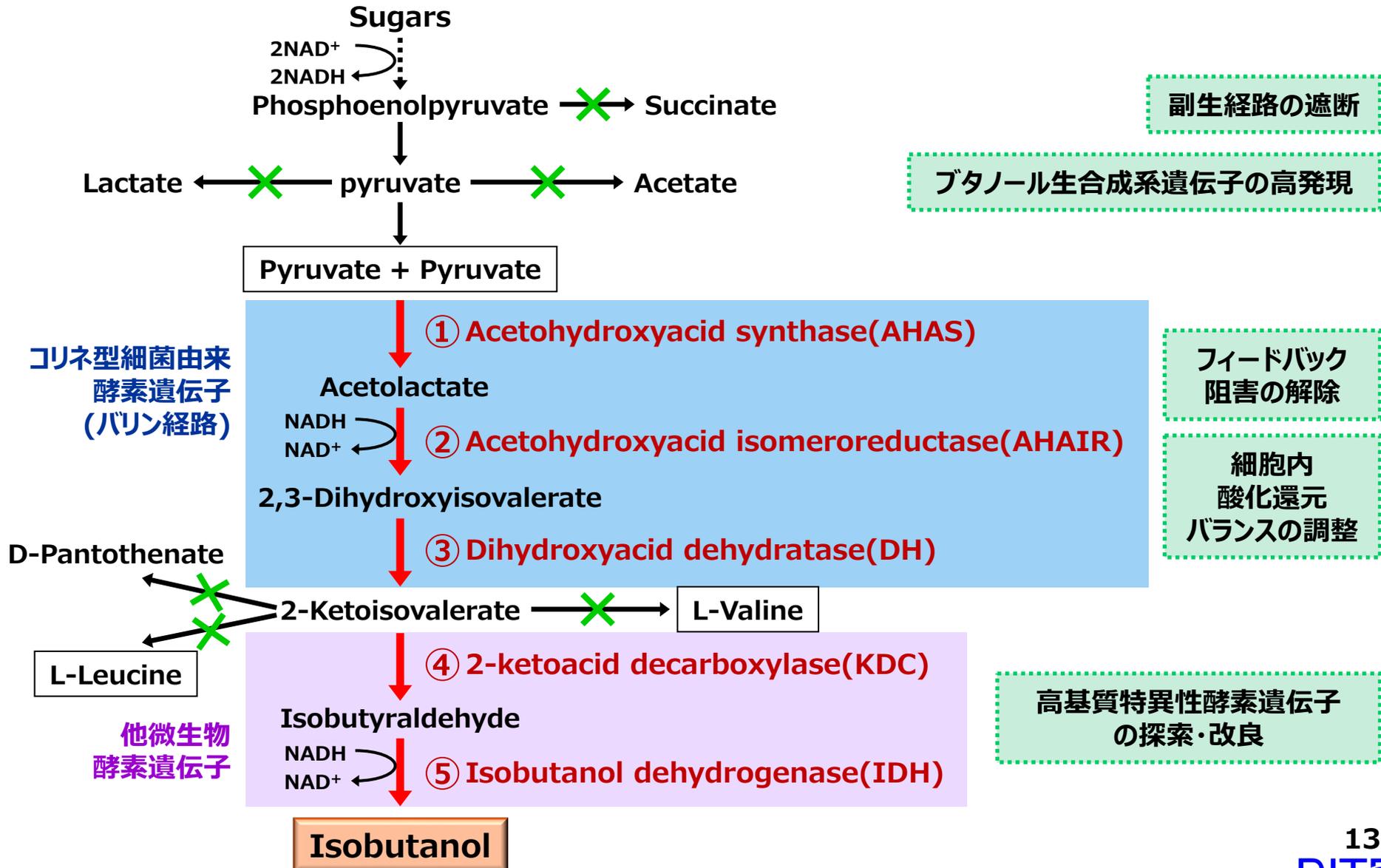


Eastman Chemical (TetraVitae)
Ji-An Biochemical Co., Ltd.
Cathay Industrial Biotechnology Co., Ltd.
Green Biologics

- ジェット燃料**
米海軍、米空軍
- ディーゼル燃料**
ジブチルエーテル
- ガソリン添加剤**
- ブチルゴム**
LANXESS 脱水→ブチレン
- PET**
東レ パラキシレン→テレフタル酸
Coca-Cola
- アクリレート類**
- アセテート**
- 溶剤**
- グリコールエーテル**

ABE:アセトン・ブタノール・エタノール発酵法

コリネ型細菌におけるイソブタノール合成経路



生産性比較: イソブタノール生産

Microorganisms	Isobutanol (g/L)	Isobutanol productivity (g/L/h)	Aerobic / Anaerobic	KDC	ADH
<i>Escherichia coli</i> ¹⁾	22	0.20	Micro-aerobic	<i>kivD</i>	<i>adh2</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ²⁾	0.63	0.007	Aerobic	<i>aro10</i>	<i>adh2</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ³⁾	5.5	0.09	Micro-aerobic	<i>kivD</i>	<i>adh2</i>
<i>Synechococcus elongatus</i> ⁴⁾	0.45	0.003	Aerobic	<i>kivD</i>	<i>yqhD</i>
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ⁵⁾	13	0.26	Shift to oxygen deprivation	<i>kivD</i>	<i>adh2</i>
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ⁶⁾	27	1.1	RITE bioprocess	<i>kivD</i>	<i>adhP</i>

1) *Nature* **451**:86-90. 2008.

2) *Biotechnol. Biofuels* **5**:65. 2012.

3) *Microb. Cell Fact.* **11**:101. 2012.

4) *Nat. Biotechnol.* **27**:1177-1180. 2009.

5) *Appl. Environ. Microbiol.* **77**:3300-3310. 2011. (Germany)

6) *Biotechnol. Bioeng.* **110:2938-2948. 2013. (RITE)**

kivD : *Lactococcus lactis*

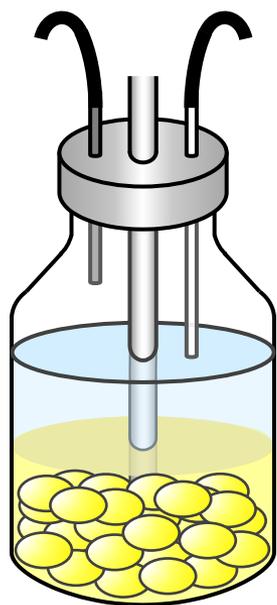
aro10: *Saccharomyces cerevisiae*

adhP: *Escherichia coli*

adh2: *Saccharomyces cerevisiae*

yqhD: *Escherichia coli*

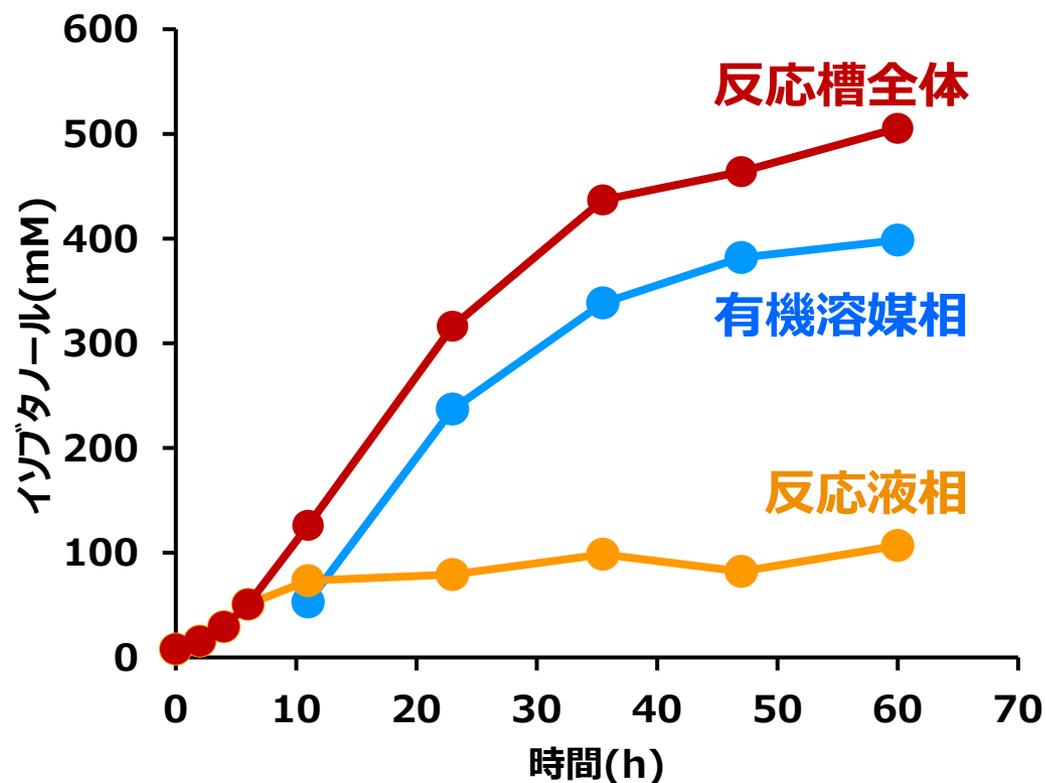
二相反応系を用いたイソブタノール生産



二相反応系

有機溶媒相

反応液相



	イソブタノール (mM)	生産性 (mol/mol%)
RITE Bioprocess®	240	57
RITE Bioprocess® + 二相反応系	505	78

グリーン化学品 生産技術の開発

増殖阻害物質の生産技術確立への挑戦

増殖阻害物質を
増殖を伴う発酵法で
生産する場合の課題

生成物による増殖阻害のため
低生産性(生成速度の低下、
最終生成物濃度の低下等)

実用生産
は非常に難

増殖非依存型バイオプロセス
(RITE Bioprocess®)

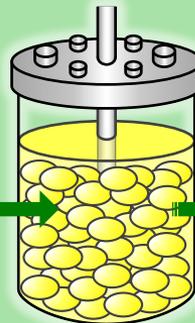
混合糖完全同時利用

発酵阻害物質耐性

非可食
バイオマス

前処理
糖化

混合糖
(C6,C5糖)



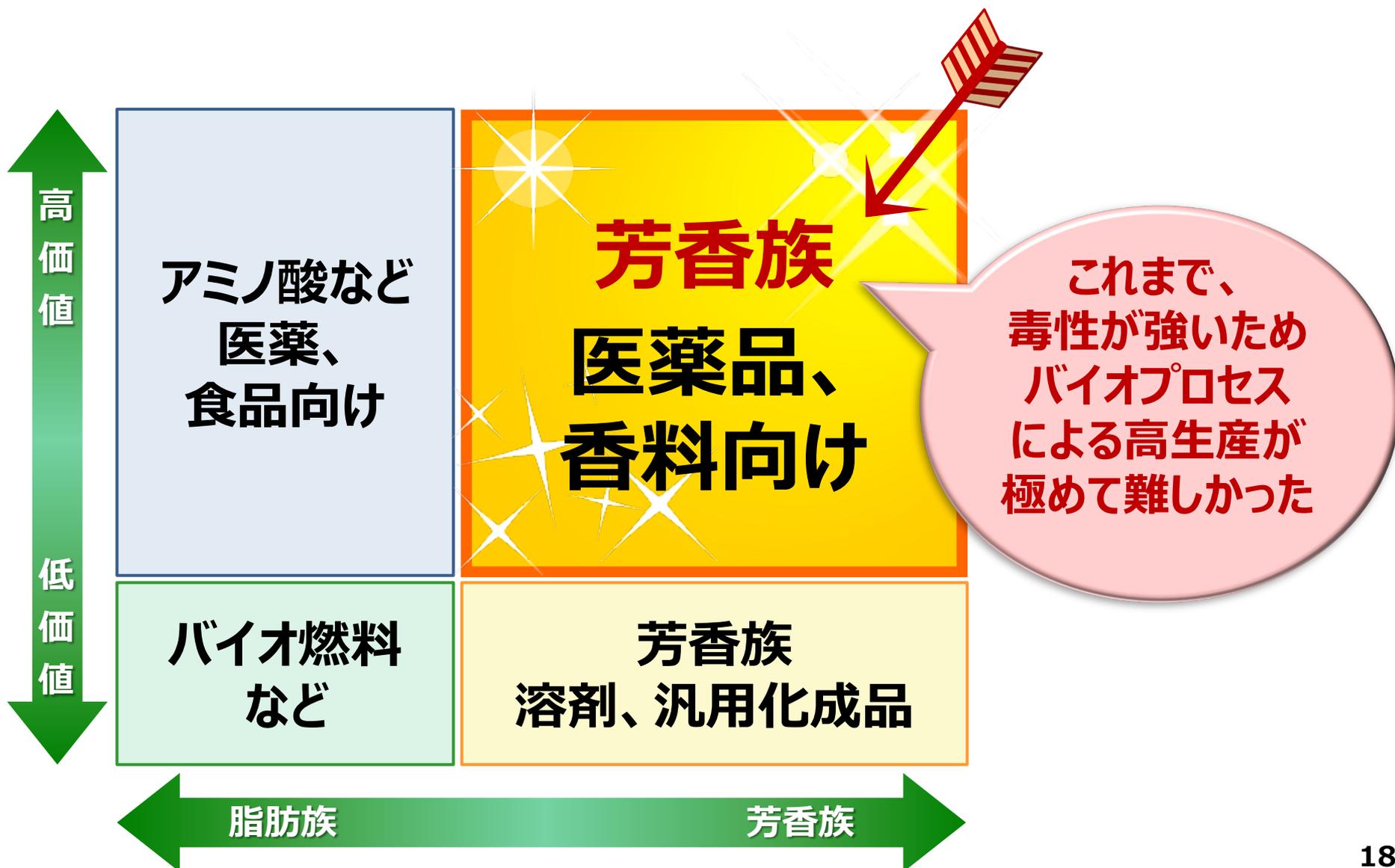
増殖阻害物質

- ・芳香族化合物(フェノール等)
- ・アルコール(ブタノール等)

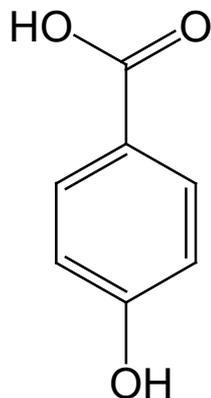
優位点

- ・コリネ型細菌は、芳香族化合物やアルコールに対する耐性が高い。
- ・生成物が増殖阻害物質の場合、増殖を伴う発酵法と比較して、増殖非依存型バイオプロセスは影響が低い。

ターゲット; 高付加価値 “芳香族化合物”



4-ヒドロキシ安息香酸



- ・4-Hydroxybenzoic acid(4-HBA)
- ・ユビキノン生産経路の中間体
- ・ベンゼン環、カルボキシル基、水酸基
- ・対角の位置に置換基

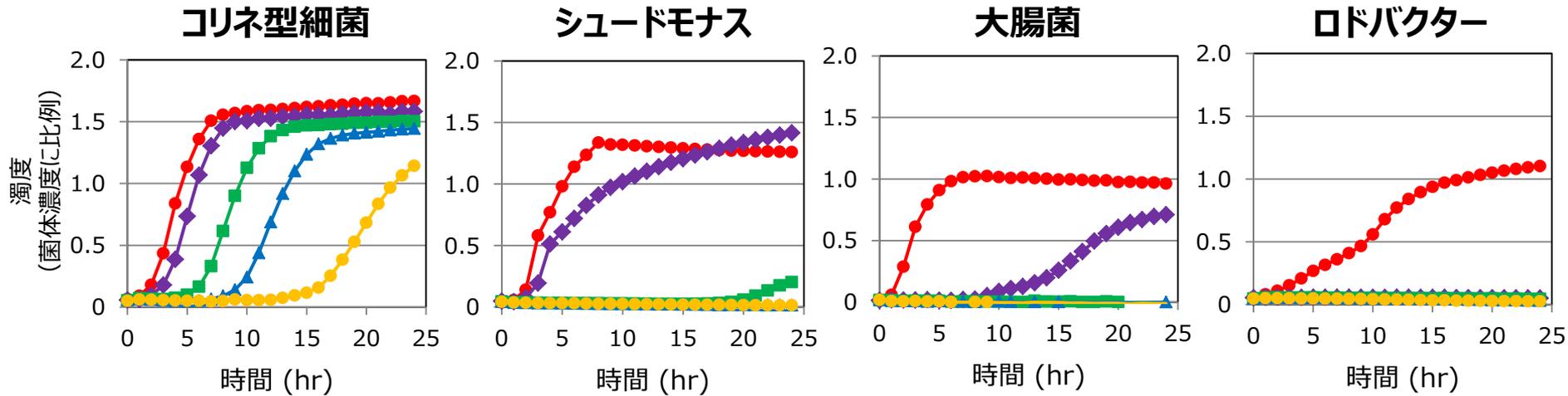
用途

- 液晶ポリマー原料
- 防腐剤(パラベン)
- バイオフィェノール前駆体
- 防カビ剤
- 写真薬
- 香料の原料
- ナイロン樹脂の可塑剤



コリネ型細菌の耐性評価

4-ヒドロキシ安息香酸存在下での各微生物の増殖曲線



培養液に加えた4-ヒドロキシ安息香酸濃度(mM)

0 100 200 250 300

	コリネ型細菌	シュードモナス	大腸菌	ロドバクター
増殖阻止濃度 (mM)	> 300	250	200	100

コリネ型細菌が最も高い耐性を持つ

生産性比較: 4-HBA生産

宿主	生産量	収率	反応時間	研究グループ
<i>Escherichia coli</i> ¹⁾	12 g/L	13%	72 h	J.W. Frost <i>et al.</i> , 2001. (ミシガン州立大)
<i>Escherichia coli</i> ²⁾	6.2 g/L	–	40 h	M. Amaratunga <i>et al.</i> , 2000. (GE)
<i>Escherichia coli</i> ³⁾	9.7 mg/L	–	24 h	B.F. Johnson <i>et al.</i> , 2000. (GE)
<i>Escherichia coli</i> ⁴⁾	1.8 g/L	~50%	96 h	S. Noda <i>et al.</i> , 2016 (神戸大)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ⁵⁾	2.2 mg/L	–	72 h	氏原ら, 2012. (協和醗酵バイオ)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ⁶⁾	0.12 g/L	–	–	R. Müller <i>et al.</i> , 1995. (ライン・フリードリッヒ・ウィルヘルム大)
<i>Pseudomonas putida</i> ⁷⁾	1.8 g/L	–	70 h	S. Verhoef <i>et al.</i> , 2007. (デルフト大)
<i>Pseudomonas putida</i> ⁸⁾	0.35 g/L	–	15 h	S. Verhoef <i>et al.</i> , 2010. (デルフト大)
<i>Pseudomonas putida</i> ⁹⁾	6.0 g/L	–	70 h	S. Verhoef <i>et al.</i> , 2014. (デルフト大)
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	134 g/L	34%	56 h	RITE

1) *Biotechnol. Bioeng.* **76**:376-390. 2001.

2) US patent 6030819

3) US patent 6114157

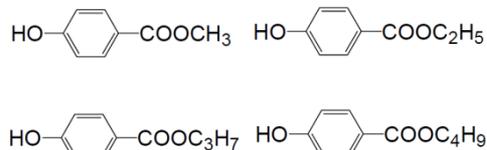
4) *Metab. Eng.* **33**:119-129. 2016.

5) 特開2012-183048(出願日2011.3.8)

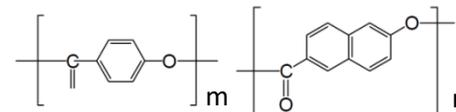
6) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**:985-988. 1995.7) *J. Biotechnol.* **132**:49-56. 2007.8) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **87**:679-690. 2010.9) *New Biotechnol.* **31**:114-149. 2014.

4-hydroxybenzoateの用途

パラベン類



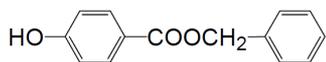
液晶ポリマー用の原料(モノマー)



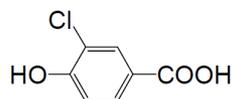
可塑剤



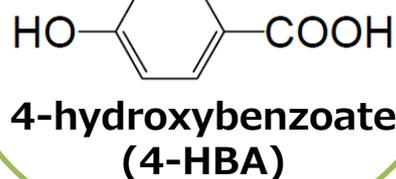
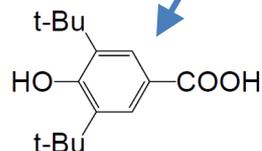
感熱紙用顕熱剤



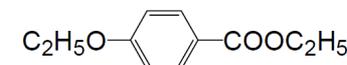
感光材料の原料



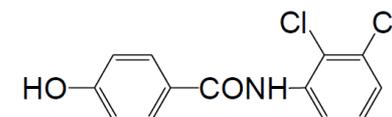
紫外線吸収剤の原料



重合選択性触媒



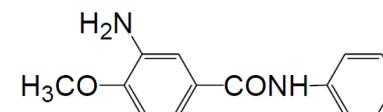
農薬等中間体



写真薬・香料の原料



染料・顔料中間体



合成生物学による スマートセルの創製

従来型細胞育種

発見(discover)



解析(analysis)



設計(design)



組換え(built)



試験(test)

スマートセル (高度に機能がデザインされた生物細胞)の創製

システム生物学ツール
新規遺伝子クラスター同定
統合オミクス解析
ゲノム解析
転写制御解析

合成生物学ツール
人工代謝パス構築
統合プラットフォーム構築
遺伝子クラスター合成
ゲノム編集

設計(Design)

構築(Built)

DBTLサイクル

学習(Learn)

試験(Test)

人工知能 (AI)
機械学習等

自動ハイスループット
アッセイ

人工的な代謝経路・遺伝子回路を計算機科学的に設計し、合成生物学により設計通りに遺伝子を合成・編集し生産細胞を創製

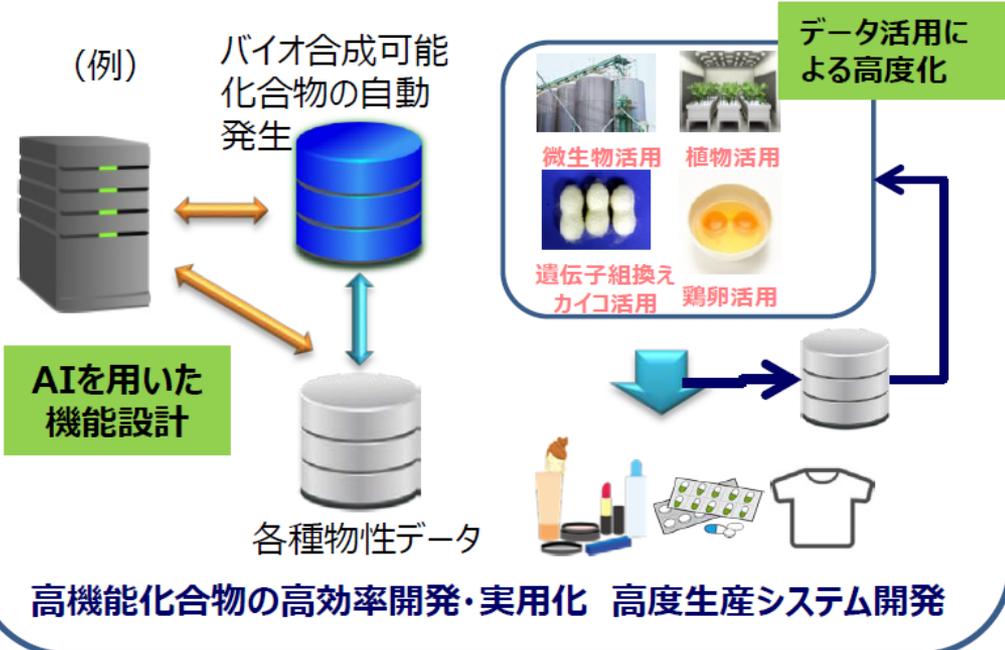
内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)に参画 研究開発期間 5年

スマートバイオ産業・農業基盤技術

研究課題C: **生物機能を利用したものづくり**による持続可能社会の実現

課題C-1

- 革新的バイオ素材・高機能品等の開発実用化
- * 機能設計：バイオ素材の合成可能性予測技術・マテリアルズインフォマティクス基盤技術の開発
 - * 生物機能を活用した高度生産システムの開発・実用化



C1:革新的バイオ素材・高機能品等の開発を加速するインフォマティクス基盤技術の開発

バイオモノマー生産グループ(バイオモノマー合成酵素開発チーム)として参加

出典: 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
生物系特定産業技術研究支援センター作成資料から抜粋
http://www.naro.affrc.go.jp/laboratory/brain/sip/files/SIP2_setumeikaisiryou_gaiyouhen.pdf

増殖阻害物質の高生産技術開発の戦略

非可食バイオマス由来
糖化液の利用に必須
な技術を唯一保有

スマートセル技術や
酵素改変技術の
導入による
更なる生産性向上

「増殖非依存型バイオプロセス」
+「高耐性コリネ型細菌の利用」
により増殖阻害物質の
高生産を実現

増殖非依存型バイオプロセス
(RITE Bioprocess®)

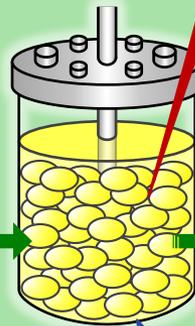
混合糖完全同時利用

発酵阻害物質耐性

非可食
バイオマス

前処理
糖化

混合糖
(C6,C5糖)



増殖阻害物質

- ・芳香族化合物(フェノール等)
- ・アルコール(ブタノール等)

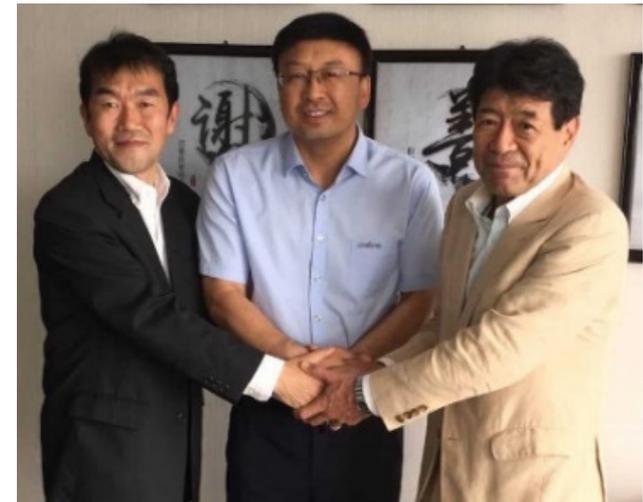
工学的手法(膜リアクター等)
とミューテーターによる
生産物耐性株の取得による
高生産の実現

Green Earth Institute(株) (GEI)

- **設立目的:** RITE Bioprocessの事業化
- **設 立:** 2011年9月1日
- **代表取締役:** 伊原智人
- **本 社:** 東京都文京区本郷7-3-1
東京大学アントレプレナープラザ
- **研究所:** 千葉県木更津市かずさアカデミアパーク
- **事業内容:** 非可食バイオマスを原料とした
バイオ燃料・化学品の生産
- **製 品:**
 - アミノ酸／工業用、食品用アミノ酸(アラニン、バリンなど)
海外の複数の国で生産プロジェクトが進行中
 - バイオ燃料／ブタノールを原料とした「JALバイオジェット
燃料フライト」プロジェクトに参画
 - 化粧品原料／化粧品用エタノールの国内販売開始



Green Earth 研究所



海外メーカーとのコラボレーション
右はRITE本庄専務理事、左はGEI伊原社長

グリーンケミカルズ(株) (GCC)

(グリーンフェノール開発(株)から社名変更)

- **設立目的:** グリーン化学品の事業化
- **設 立:** 2014年5月27日
(RITEと住友ベークライト(株)で設立したグリーンフェノール・高機能フェノール樹脂製造技術研究組合を組織変更して設立)
- **代表者:** 代表取締役社長 林 茂 (住友ベークライト(株))
- **本 社:** 京都府木津川市木津川台9-2(RITE内)
- **拠点:**
 - ・RITE内
 - ・住友ベークライト(株)静岡工場内
- **事業内容:**
 - ・NEDO事業を受託し(H26.5~27.3)、千葉県かずさアカデミアパークにパイロット設備を設置、RITEが開発した2段工程法を利用したグリーンフェノールの生産に成功(住友ベークライト静岡工場内に移設)。
 - ・NEDO事業助成により(H27.8~30.2)精製プロセスを導入し、グリーンフェノールのバイオ生産~精製までの一気通貫生産を実現。
 - ・同パイロット設備において各種グリーン化学品生産を検討中。



パイロット生産設備



グリーンフェノールモノマー/樹脂



グリーンフェノール樹脂材料成形品

まとめと今後の展開

スマートセル創製技術の開発

- バイオ技術 × デジタル技術の融合

RITE Bioprocess

- 高生産性
- 混合糖類(C6, C5糖)の完全同時利用性
- 発酵阻害物質への高度耐性

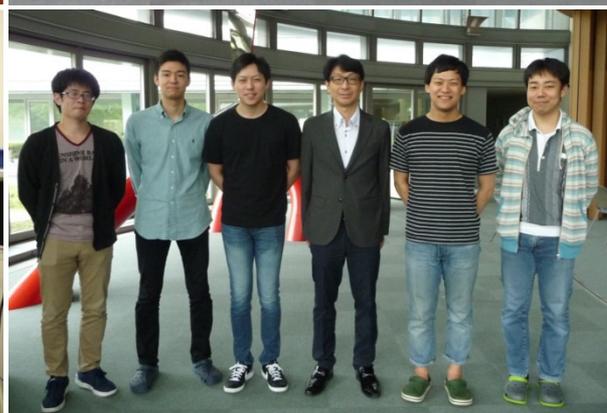
バイオ燃料生産技術の開発

- バイオジェット燃料; 目標 → 2020年 チャーターフライト運航

グリーン化学品生産技術の開発

- グリーン芳香族化合物(ポリマー・香料・化粧品等の原料);
製造技術開発の加速

RITE バイオ研究グループ



↑
RITEバイオ研究グループ

← 奈良先端科学技術大学院大学
教育連携研究室
微生物分子機能学(乾研究室)

Thank you for your attention

Contact Information:

mmg-lab@rite.or.jp

www.rite.or.jp