

革新的環境技術シンポジウム2022

2022年12月7日

# カーボンニュートラルに貢献する 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)

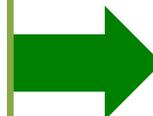
バイオ研究グループ／グループリーダー、主席研究員

乾 将行

# 2050年カーボンニュートラル宣言 背景と目標

## 背景

- 世界的な脱炭素化の潮流の加速。
- 宣言時、**123か国と1地域**が、2050年までにカーボンニュートラルを実現することを宣言（その後も増加）。
- 各国とも、グリーン分野の研究開発支援や先端技術の導入支援などを積極的に実施。



## 宣言

- **2020年10月26日**の第203回臨時国会における所信表明演説にて菅総理(当時)が、「2050年カーボンニュートラル、脱炭素社会の実現を目指す」ことを宣言。



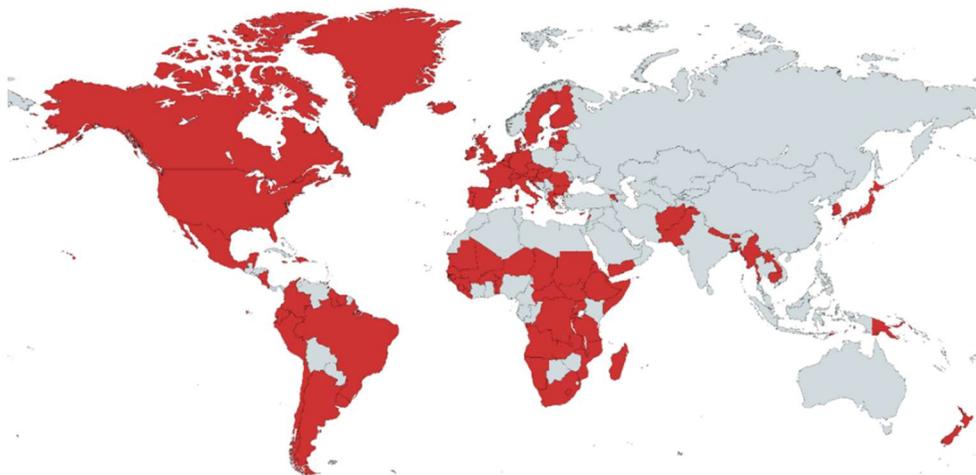
## 目標

- **【中期目標】2030年度** までに、温室効果ガスの排出量を**26%削減**（2013年度比、宣言時）。  
→ 2021年4月の気候変動サミットで**46%削減**に上積み。
- **【長期目標】2050年度** までに、温室効果ガスの排出量を**80%削減**。  
→ 2050年にできるだけ近い時期にカーボンニュートラルを実現。

## 2050年までのカーボンニュートラルを表明した国 (125カ国・1地域、2021年4月時点)

**125カ国・1地域**

※全世界のCO2排出量に占める割合は39.0%(2017年実績)



Created with mapchart.net

# 化学プロセスとバイオプロセスによる ものづくりの違い

- 化学プロセスは、800℃以上の高温高压条件下でものづくりが行われるが、バイオプロセスでは、自然条件下(常温常圧下)でものづくりが進行し、CO<sub>2</sub>排出量の削減が期待できる。
- バイオものづくりでは、化学プロセスとは違い一般的に多段階の反応を重ねる必要がないので、炭素数の多い複雑な物質生産ほど競争力が高い。  
一方、バイオで作れる物質数を増やすためには、目的物質ごとに最適化された微生物の生産株・生産技術を開発する必要がある。

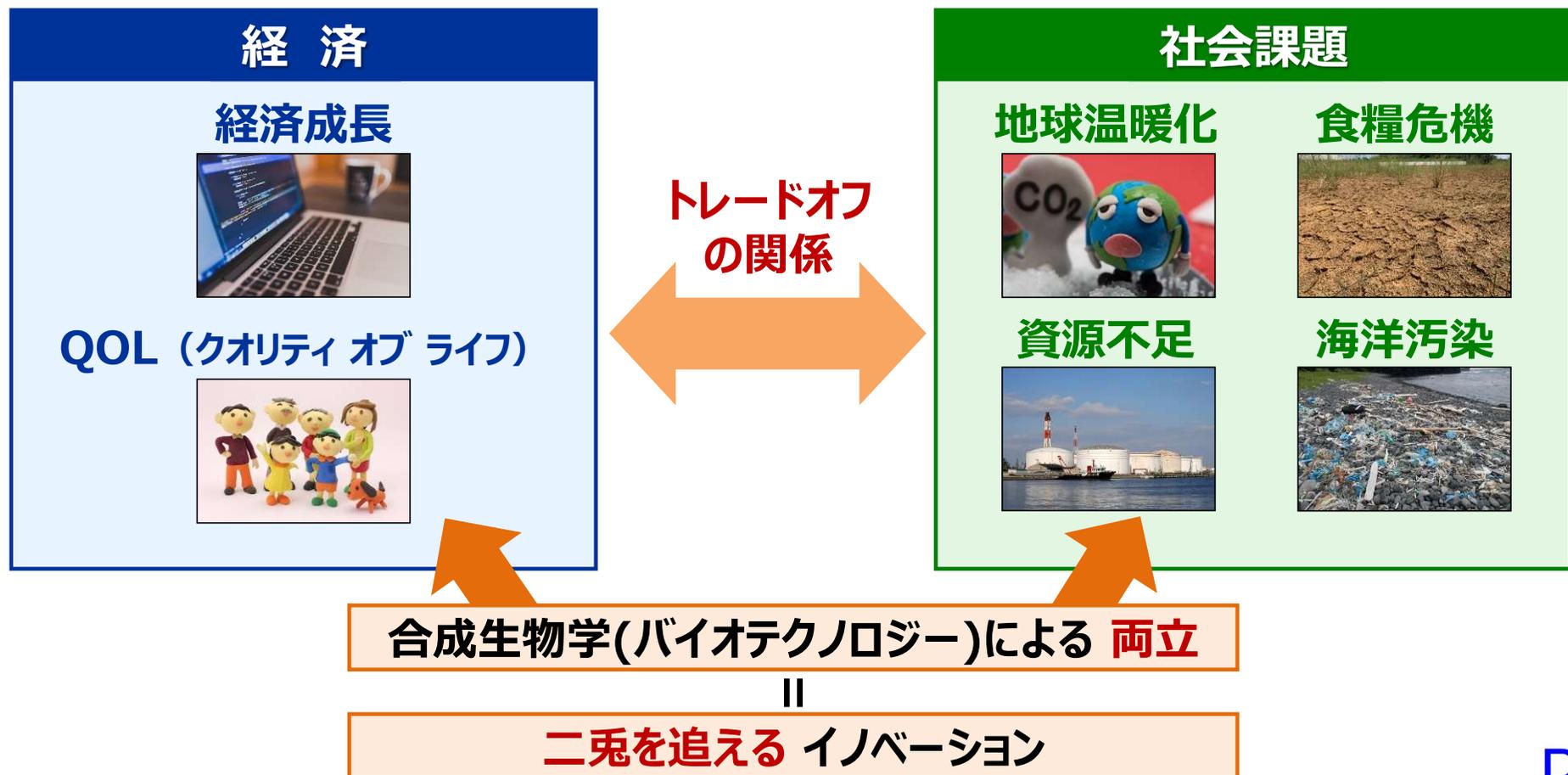


# 【第4回 新しい資本主義実現会議】(令和4年3月8日) (岸田内閣総理大臣発言)

## ■ 科学技術・イノベーションへの投資

①量子技術 ②AI(人工知能) ③再生・細胞医療・遺伝子治療 ④**バイオものづくり** ⑤グリーン礼ギ-  
の5分野で日本が世界をリードしていく明確な決意の下、大胆かつ重点的な投資を行います。

バイオものづくりについては、経済成長と地球温暖化などの社会課題の解決の  
二兎(にと)を追える研究分野として推進してまいります。



# バイオリファイナー

非可食  
バイオマス



## RITE Bioprocess® (増殖非依存型バイオプロセス)

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

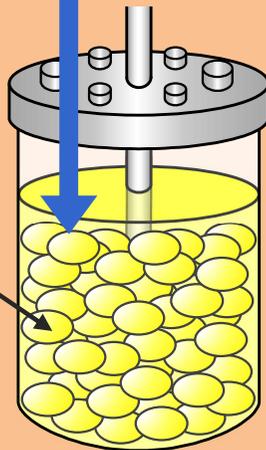
C6糖 6  
C5糖 5

発酵阻害  
物質耐性



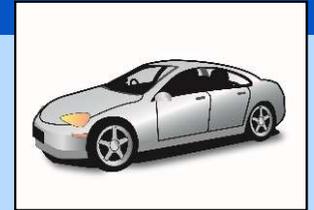
*Corynebacterium  
glutamicum*

高生産性



## バイオ燃料

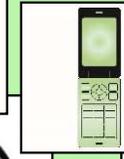
- ・エタノール
- ・ブタノール
- ・水素
- ・ジェット燃料



## グリーン化学品

自動車部材、包装材、電気製品部材、炭素繊維、各種樹脂等

- ・C2エタノール
- ・C3プロパノール
- ・C4ブタノール等
- ・アミノ酸
- ・芳香族化合物
- ・バイオプラスチック等

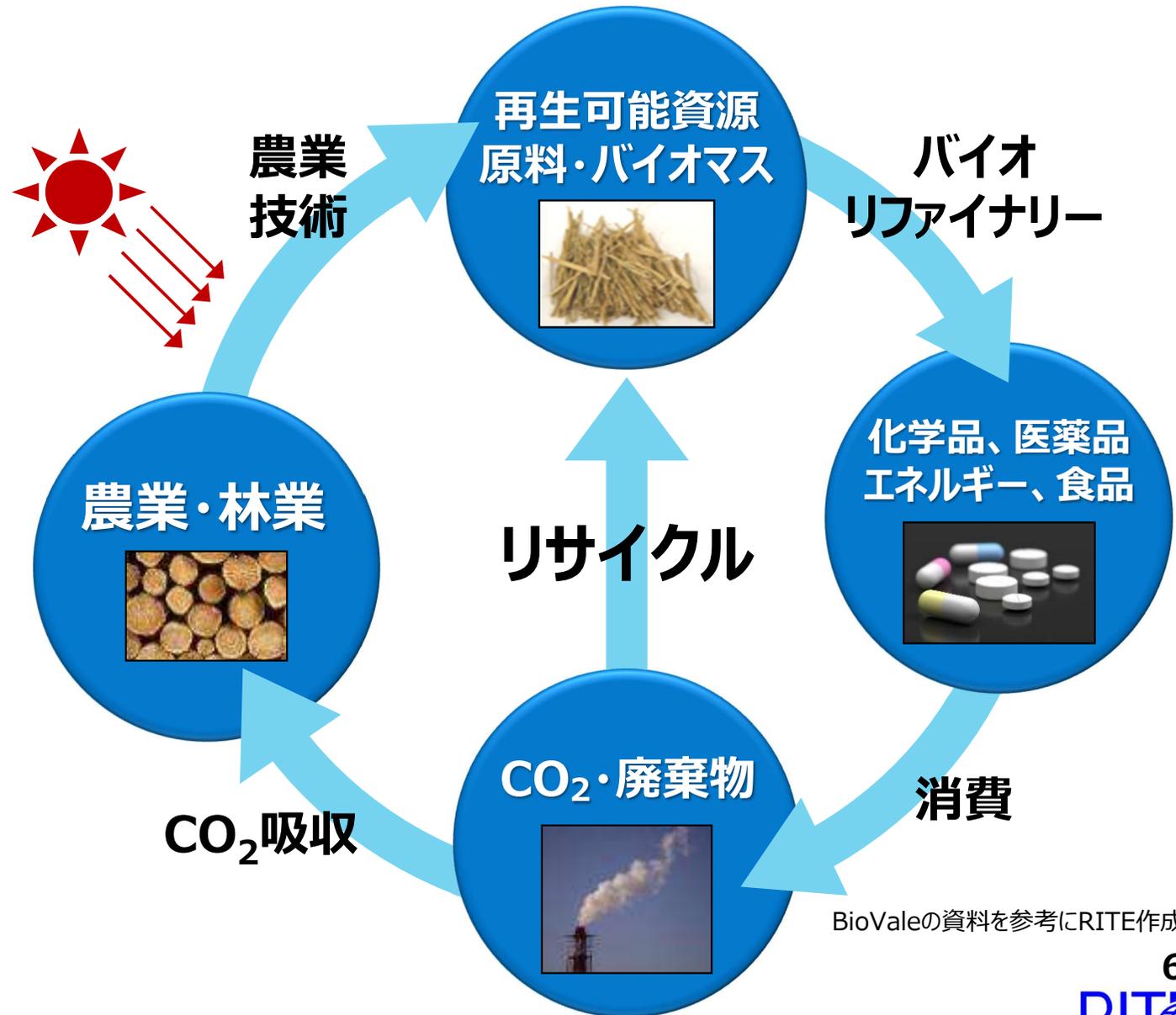


# バイオエコノミー (Bioeconomy)

Bioeconomy : バイオ技術に基づく産業、循環型社会とバイオ産業が融合

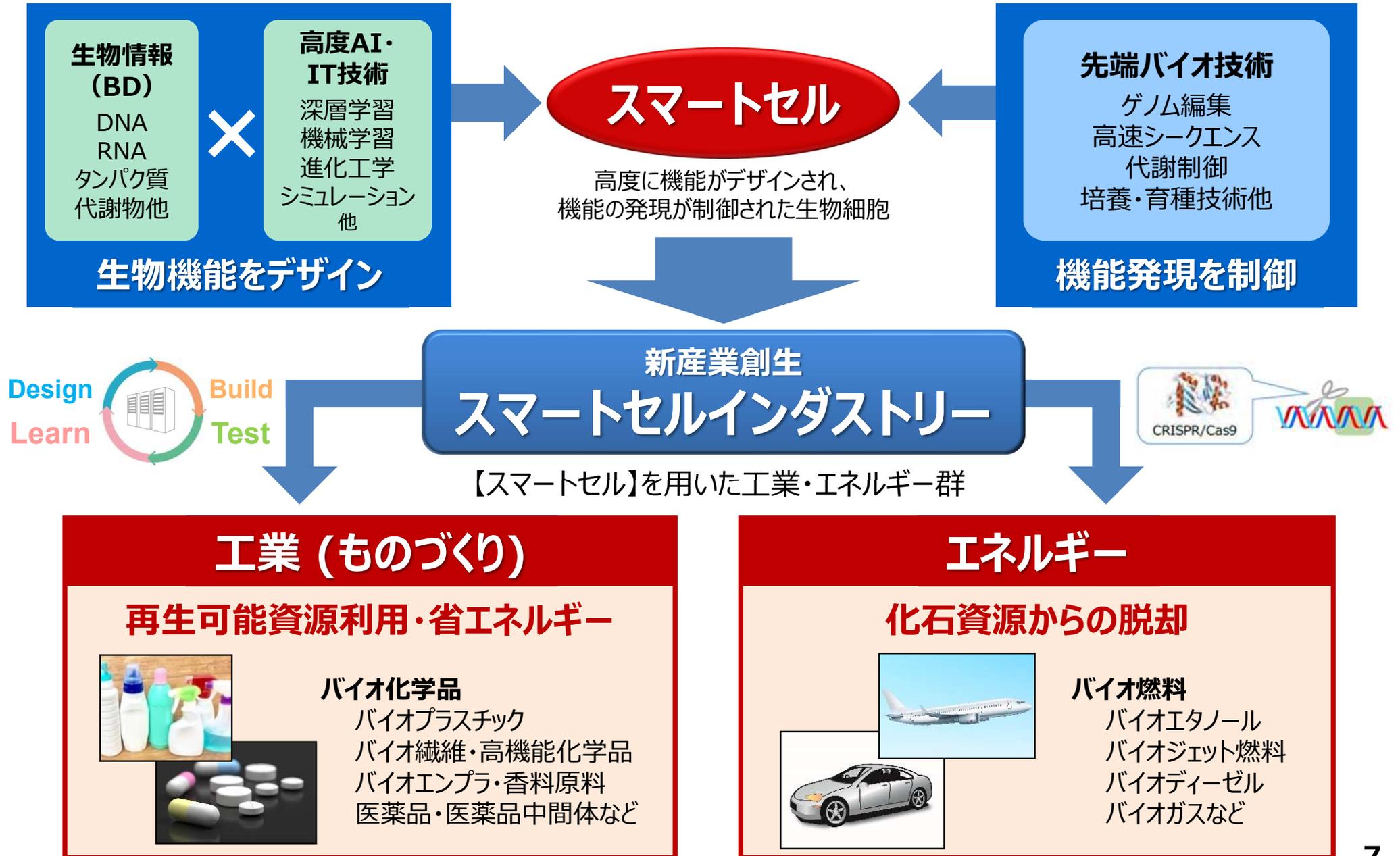
- ・ バイオ技術が貢献する市場は、**2030年に200兆円規模**。
- ・ OECD加盟国全 **GDPの2.7%**と予測。
- ・ **工業分野**では全体の**39%**を占める。

出典: 経産省



BioValeの資料を参考にRITE作成

# バイオ×デジタルが変える工業／エネルギー分野



# RITE バイオ研究グループのコア技術

## 非可食 バイオマス 原料利用

### 農産廃棄物



### 未利用 食品廃棄物等



みかん脱汁液



焼酎粕



古紙



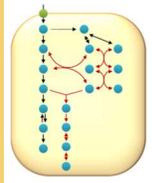
ふすま



コーヒーかす

## 遺伝子組換え技術

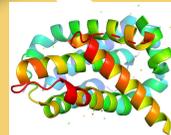
スマートセル創製技術  
(人工代謝経路設計)



ゲノム  
編集技術



コリネ型  
細菌



酵素機能  
改変技術



ミューター技術  
(進化の加速)

- ・スマートセル創製技術  
(NEDOスマートセルPJ)
- ・酵素機能改変技術  
(農研機構 SIP PJ)
- ・ゲノム編集技術
- ・ミューター技術

## バイオプロセス

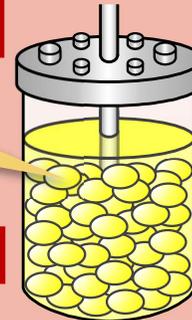
RITE Bioprocess®  
(増殖非依存型バイオプロセス)

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

発酵阻害  
物質耐性

高生産性



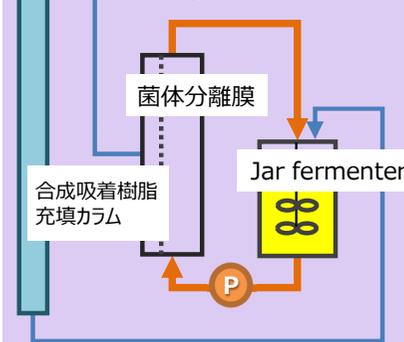
増殖非依存型  
バイオプロセス

- ・発酵阻害物質耐性
- ・混合糖完全同時利用可
- ・増殖阻害物質  
(芳香族化合物、アルコール等)  
に対する高耐性

## 工学的生産手法

(膜透過液)

菌はJar~菌体分離膜  
を循環



・連続反応システム

AI制御

並列化



実証

- ・AI制御バイオプロセス  
(NEDOものづくりPJ)

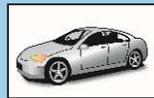
## 適応分野

バイオ燃料

ジェット燃料



ガソリン添加剤



H<sub>2</sub>

グリーン化学品

ポリマー原料



香料原料



医薬品原料



化粧品原料



繊維原料



飼料添加剤



塗料原料



接着剤原料



生分解  
プラスチック原料

# ミューテーター 突然変異導入法

# ミューテーター突然変異導入法

## 菌株の耐性化

### < 突然変異導入法とその特徴 >

方法	薬剤等	原理	主な変異タイプ	変異頻度	細胞毒性
自然突然変異	-	・DNA複製エラー ・DNA修復エラー ・DNA組換え	・多様な塩基置換 ・フレームシフト ・挿入/欠失	低	-
UV照射	UV	・DNA損傷	・TT⇒TC	高	高
アルキル化剤処理	EMS, ENU, MMS, MNNG	・DNA損傷	・G⇒A	高	高
<b>ミューテーター突然変異導入法</b>	<b>ミューテーター化ベクター</b>	・DNA複製エラー ・DNA修復エラー ・DNA組換え	・多様な塩基置換 ・フレームシフト ・挿入/欠失	<b>高</b>	<b>-</b>

### 1. ミューテーター高速育種法

ミューテーター化ベクター導入  
多検体選抜処理

### 増殖阻害物質耐性株

ベクター除去  
染色体抽出・解析依頼

### 2. 耐性変異点解析

耐性変異点の同定  
耐性機構の解明

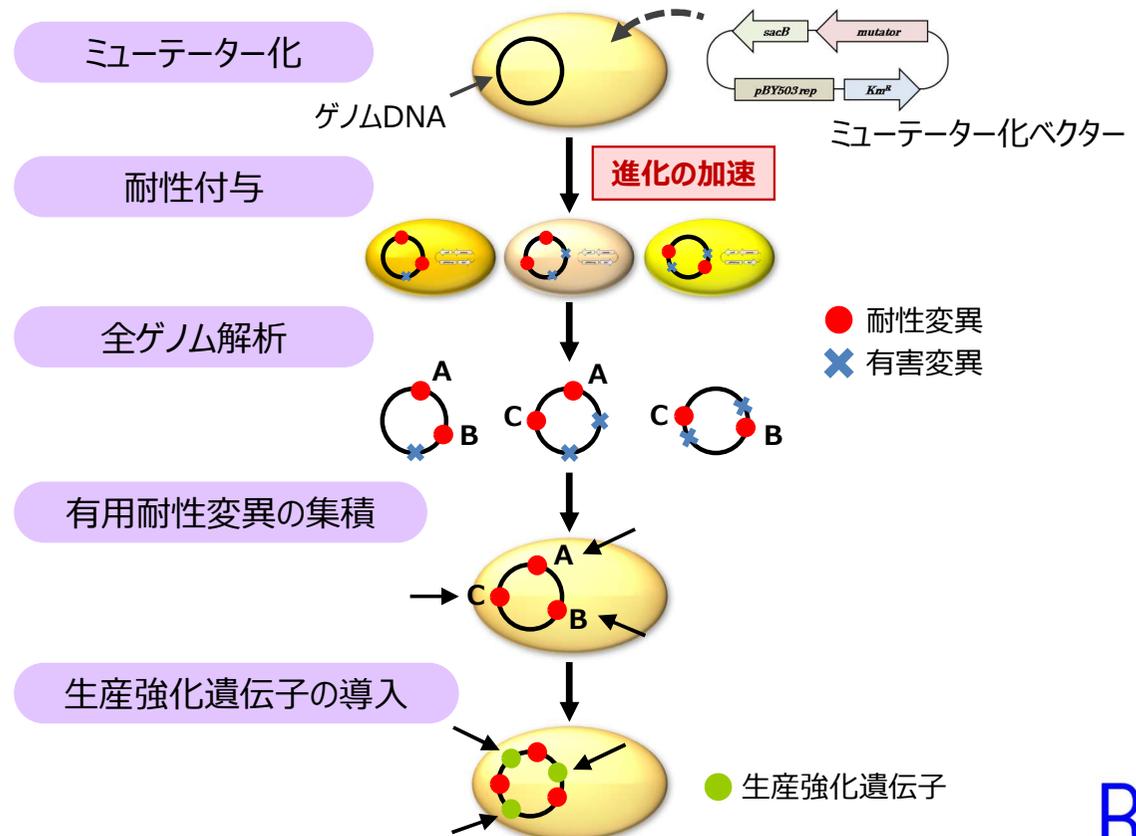
### 3. 高効率生産株の創成

増殖阻害物質耐性強化株の再構築

### スーパー耐性株

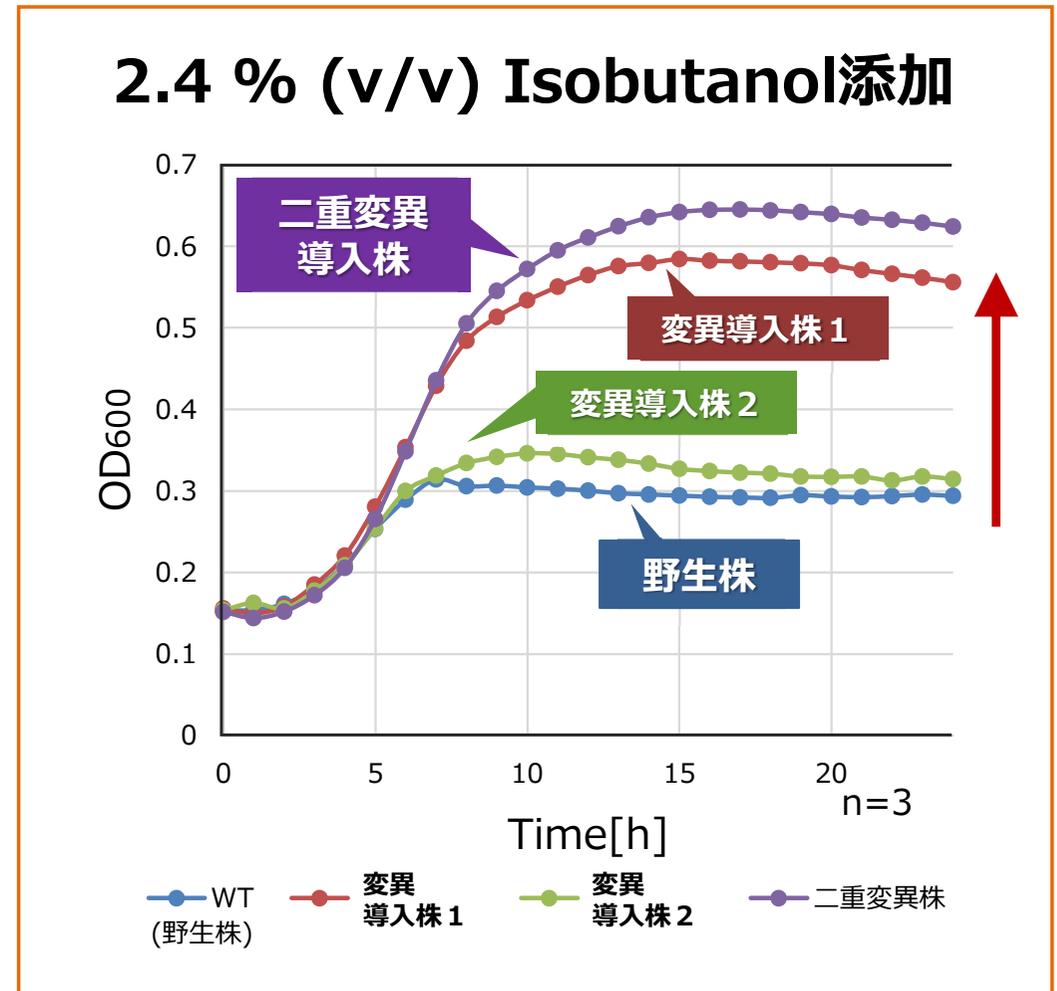
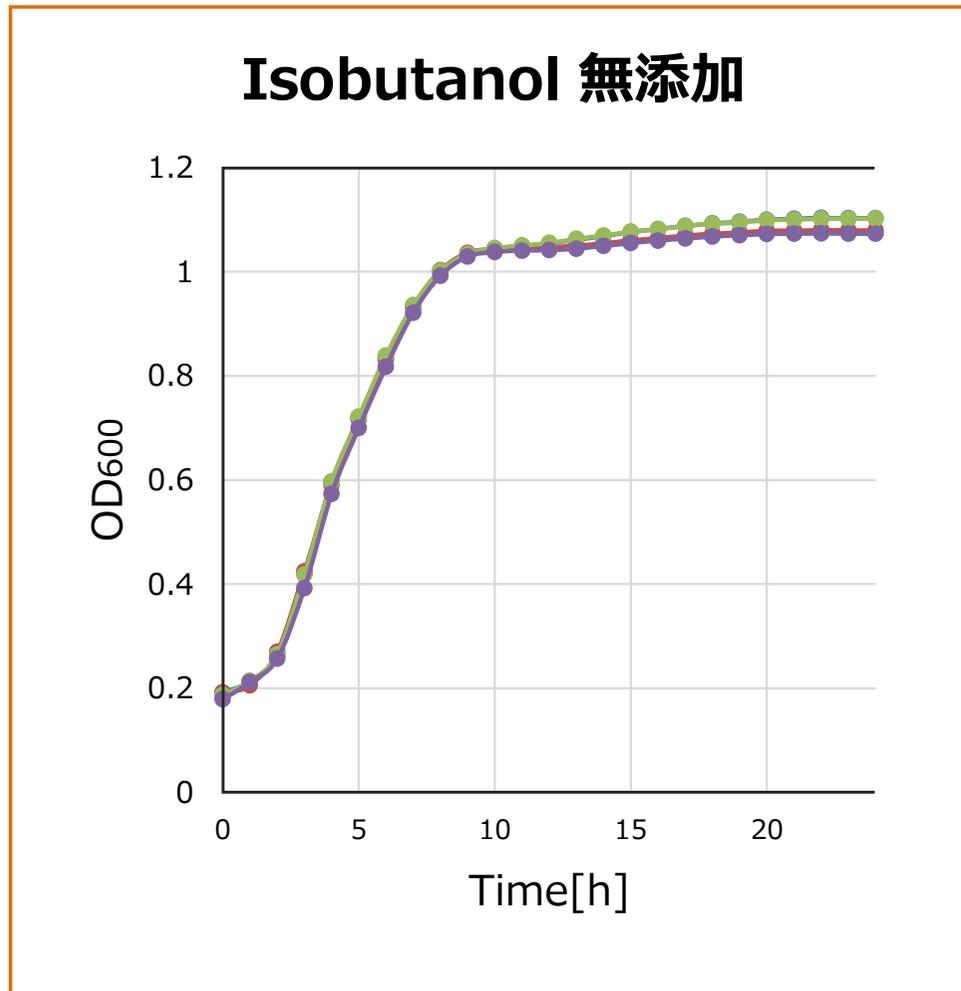
ターゲット化合物生産遺伝子の追加

### 耐性を持った高効率生産株



# ミューターによるイソブタノール耐性株 耐性変異遺伝子の取得実績

イソブタノール耐性に有効な2つの変異点を野生株のゲノム上に導入して試験



変異導入株 1 (有効変異 A)、変異導入株 2 (有効変異 B)、二重変異変異導入 (有効変異 A + B)

# スマートセル 創製技術開発

# 合成生物学によるスマートセルの創製

従来型細胞育種

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

発見(discover)



解析(analysis)



設計(design)



組換え(build)



試験(test)

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(Build)

DBTLサイクル

学習(Learn)

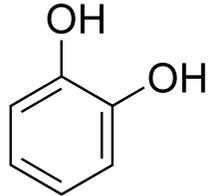
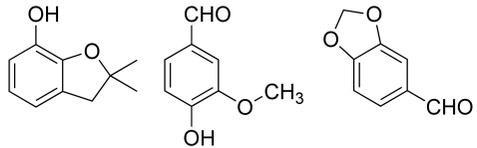
試験(Test)

人工知能(AI)  
機械学習等

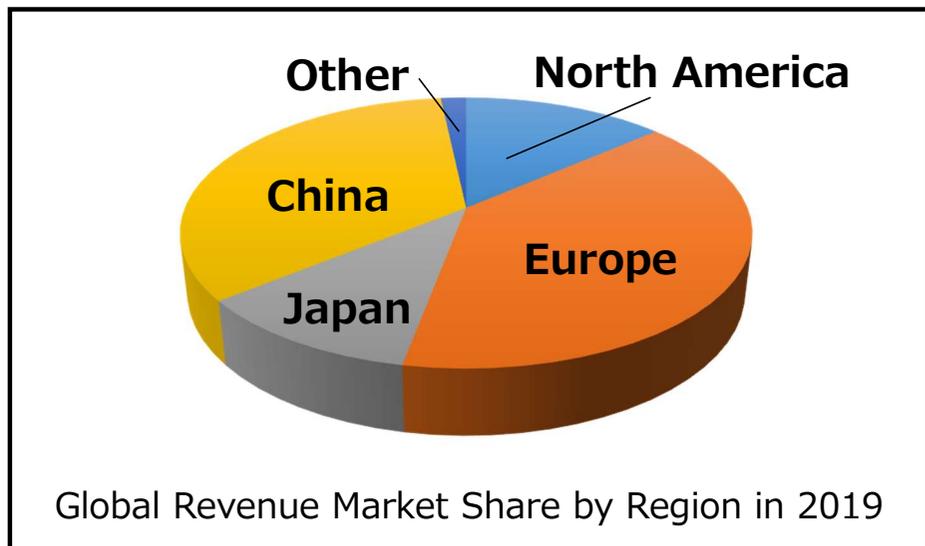
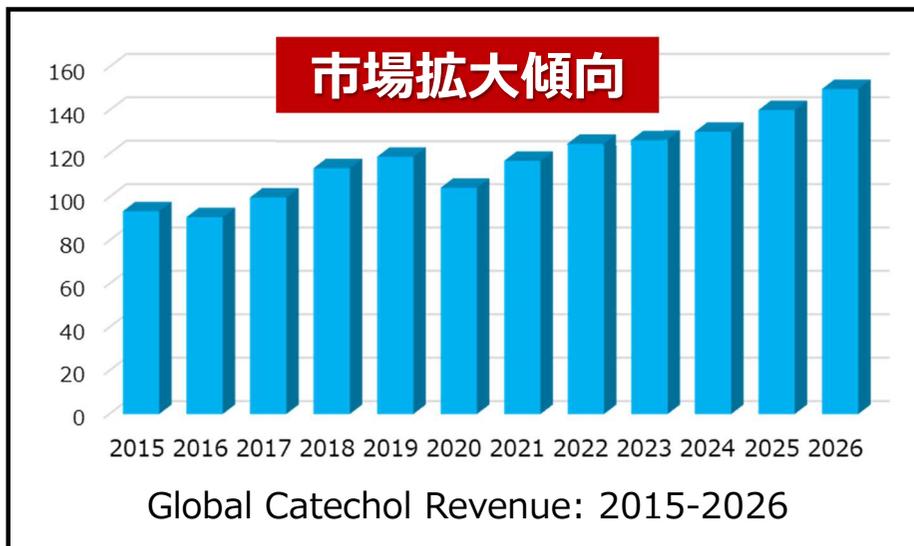
自動ハイスループット  
アッセイ

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

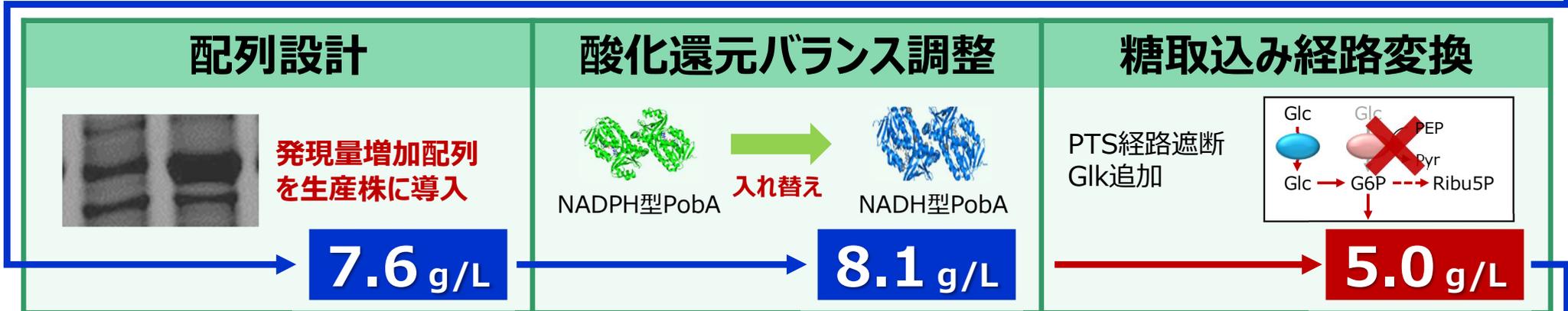
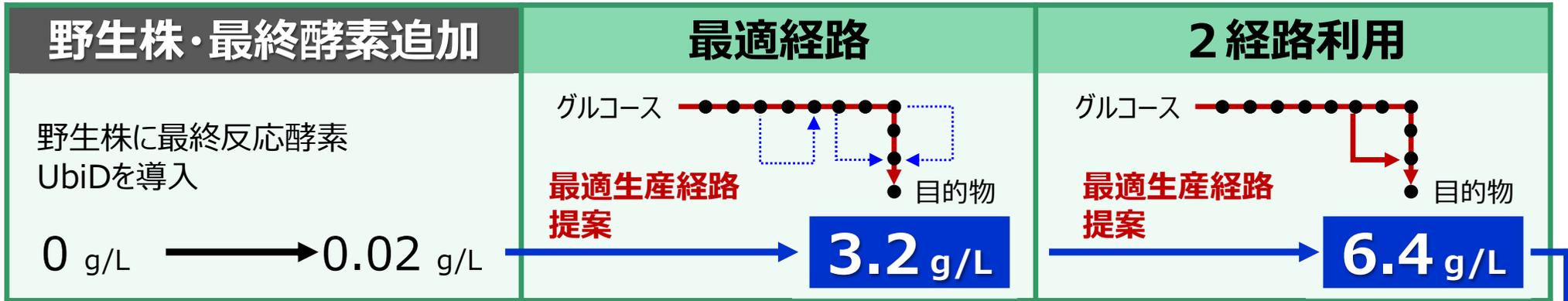
# カテコール

<p>目的芳香族化合物</p>	<p>カテコール</p>	
<p>用途</p>	<p>香料、重合禁止剤、 抗酸化剤、医薬品、 農薬の合成原料、 レジストの剥離剤、脱酸素剤、 メッキ処理剤の原料</p>	 

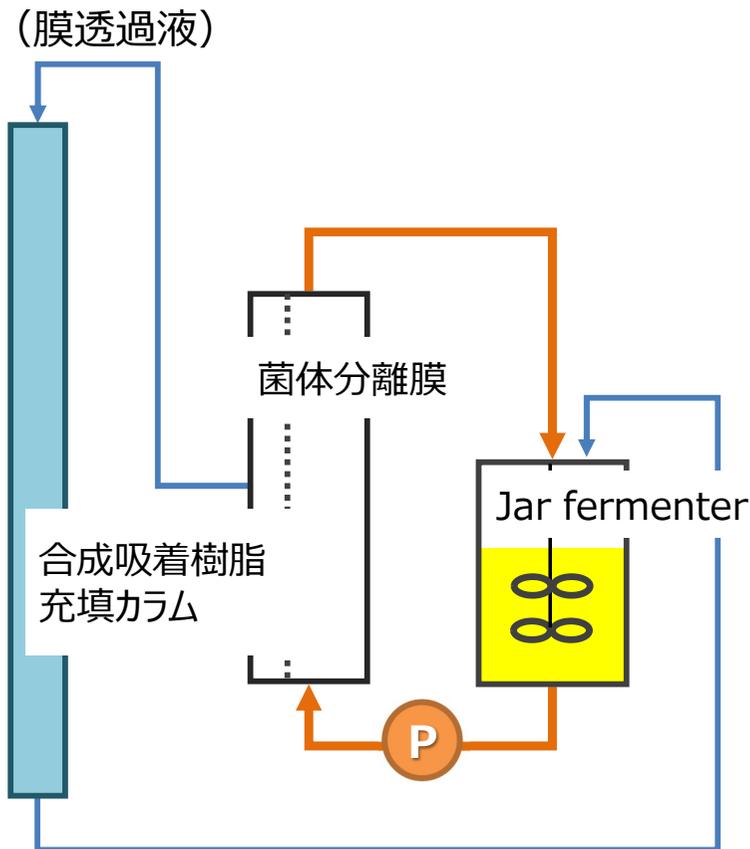
<https://www.openpr.com/news/766676/Catechol-Market-Key-Players-analysis-Solvay-UBE-Industries-Camlin-Fine-Chemicals-Sumitomo-Chemical-Co-Trivenichemical-Mitsui-Chemicals.html>



# スマートセル設計システムを利用した生産性の推移 全実施項目を組み合わせた生産性の推移



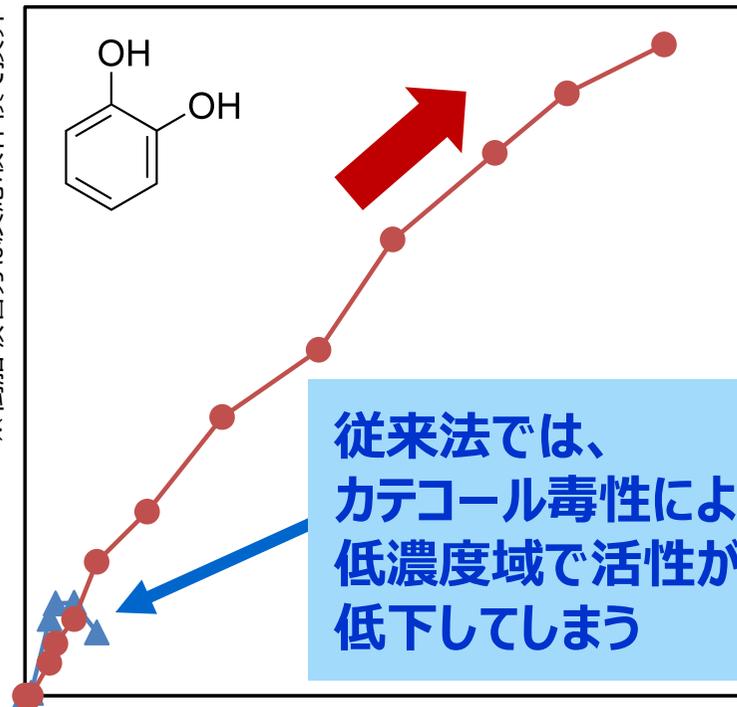
# 工学的手法を利用したカテコールの高生産例



工学的手法によりカテコールを回収除去しながら生産することで高活性が持続し、高生産を達成

カテコール生産濃度

※樹脂吸着分は反応液体積で換算

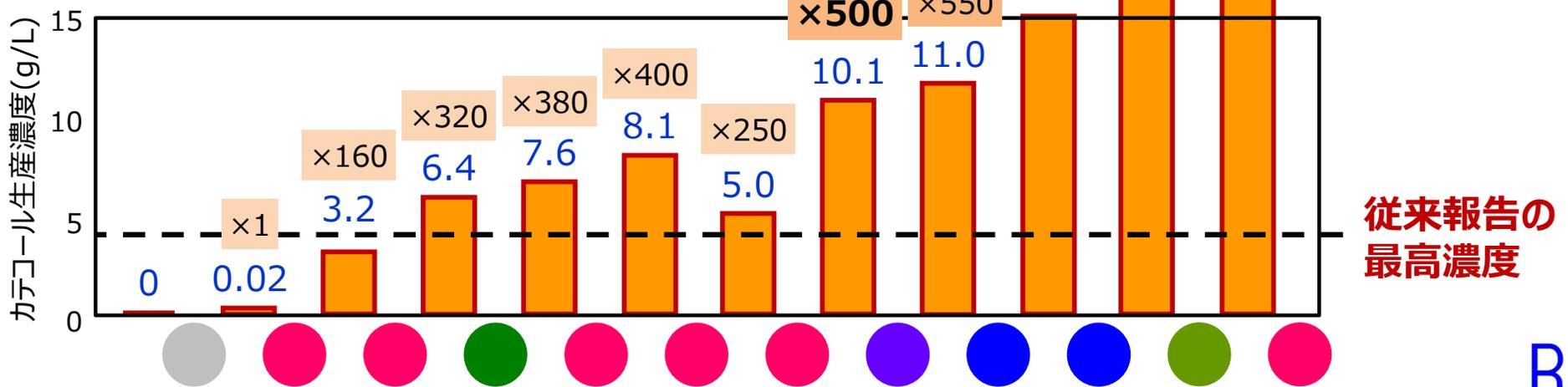
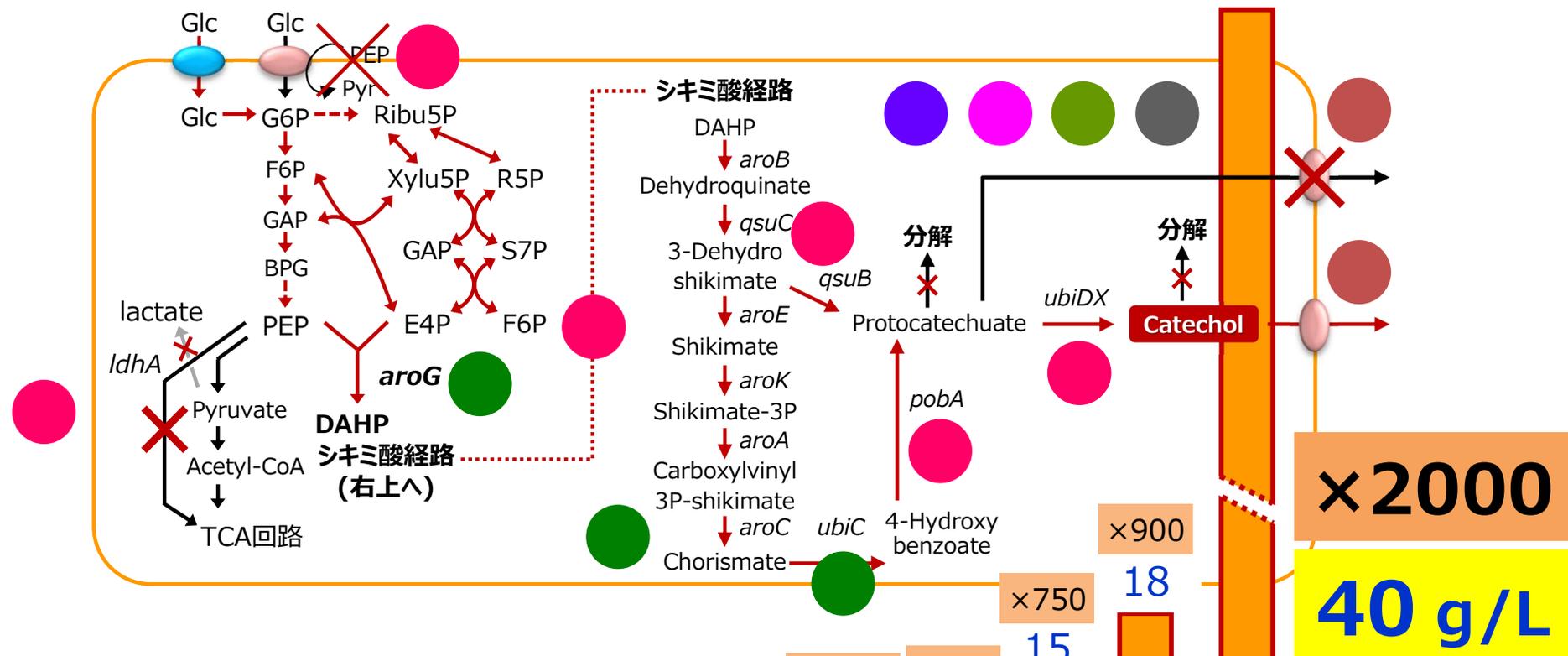


時間

従来法では、カテコール毒性により低濃度域で活性が低下してしまう

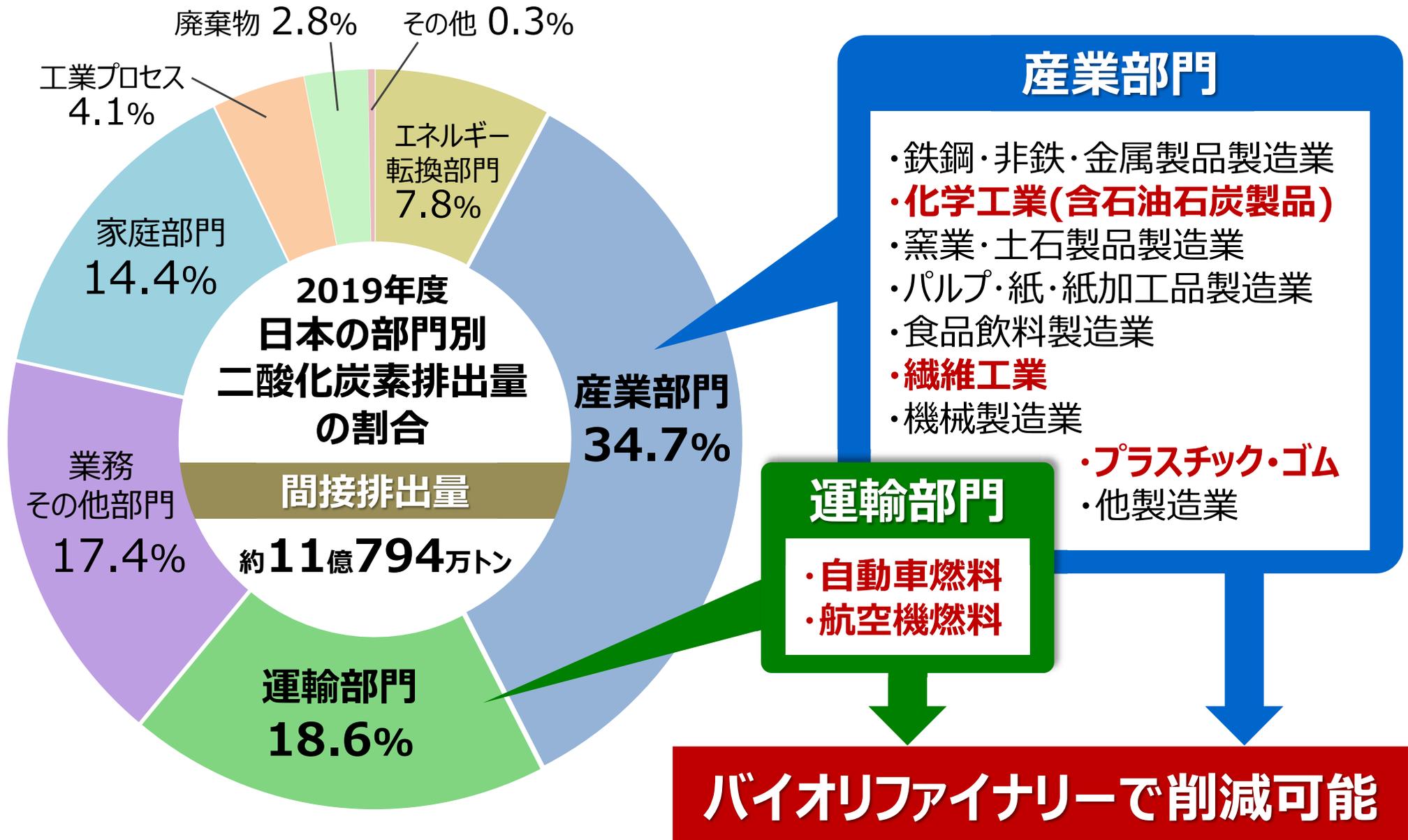
# スマートセル設計システムによる カテコール生産株の創製

各スマートセル設計システムから提案された代謝改変指針により順次生産性が向上



# グリーン化学品 生産技術の開発

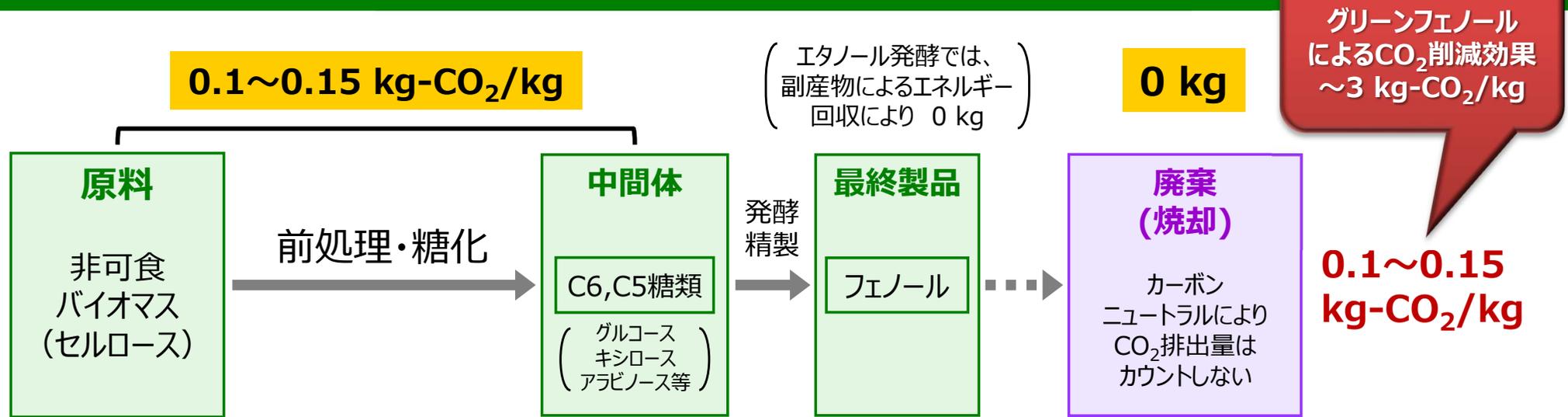
# 国内CO<sub>2</sub>排出量の内訳



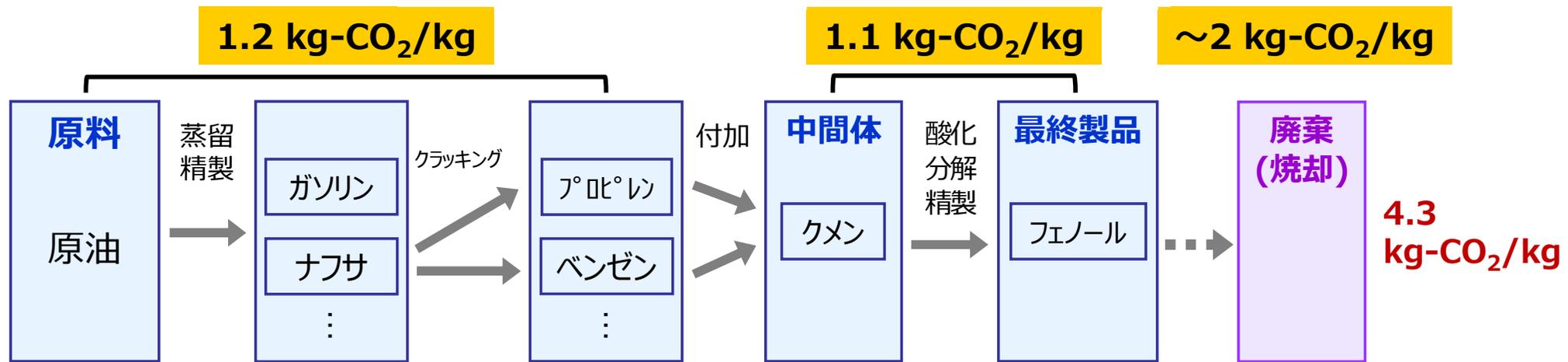
「温室効果ガスインベントリオフィス」資料を参考にRITE作成

# グリーンプロセスと石油化学における フェノール製造時のCO<sub>2</sub>排出量比

## グリーンプロセスによるフェノール製造 1)



## 石油化学プロセスによるフェノール製造 2)



1) *Journal of Japan Society of Energy and Resources*, 30:9-14. 2009. AIST論文を参考に作成

2) 経産省 カーボンフットプリント制度試行事業CO<sub>2</sub>換算量共通原単位データベースver.4.01(国内データ)を参考に作成

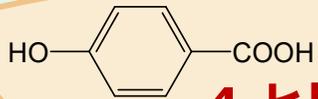
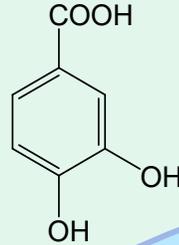
# 市場分類

## エンプラ

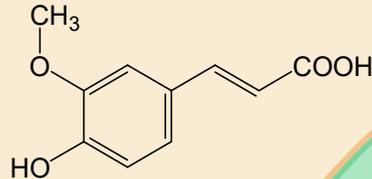
・家電製品の部品  
や車載部品等の  
機構部分に多用



## プロトカテク酸



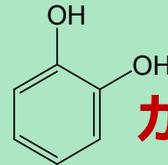
## 4-ヒドロキシ安息香酸



## フェルラ酸



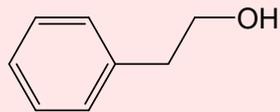
## フェノール



## カテコール



## p-アミノ安息香酸



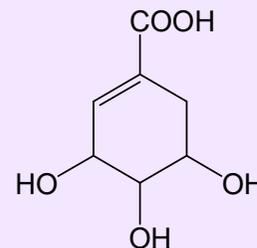
## 2-フェニルエタノール

## 香料・化粧品

・高付加価値、  
高価格  
・市場拡大傾向



## シキミ酸



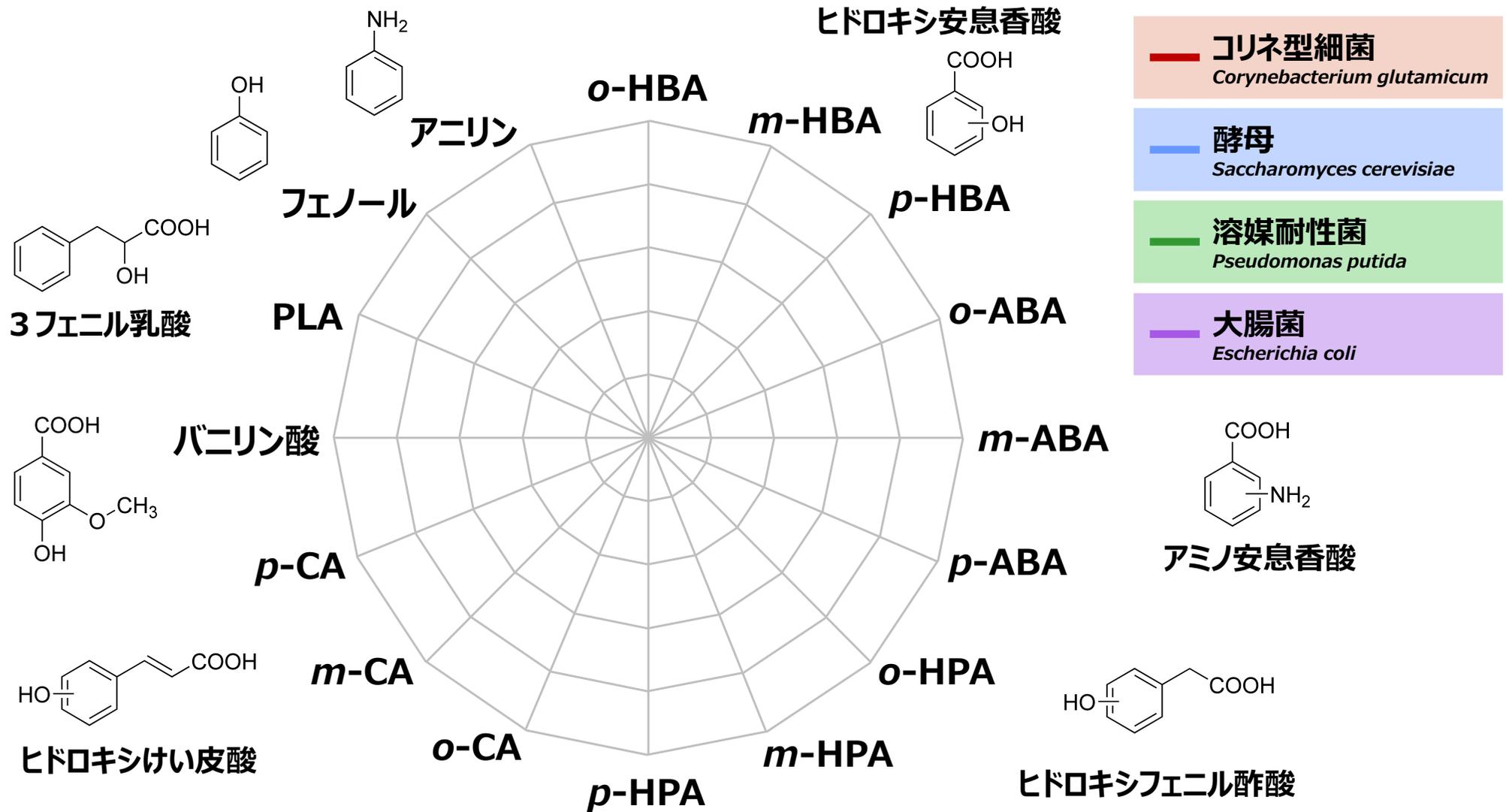
## 医薬原料

・高付加価値  
・ニッチだが、  
手堅い



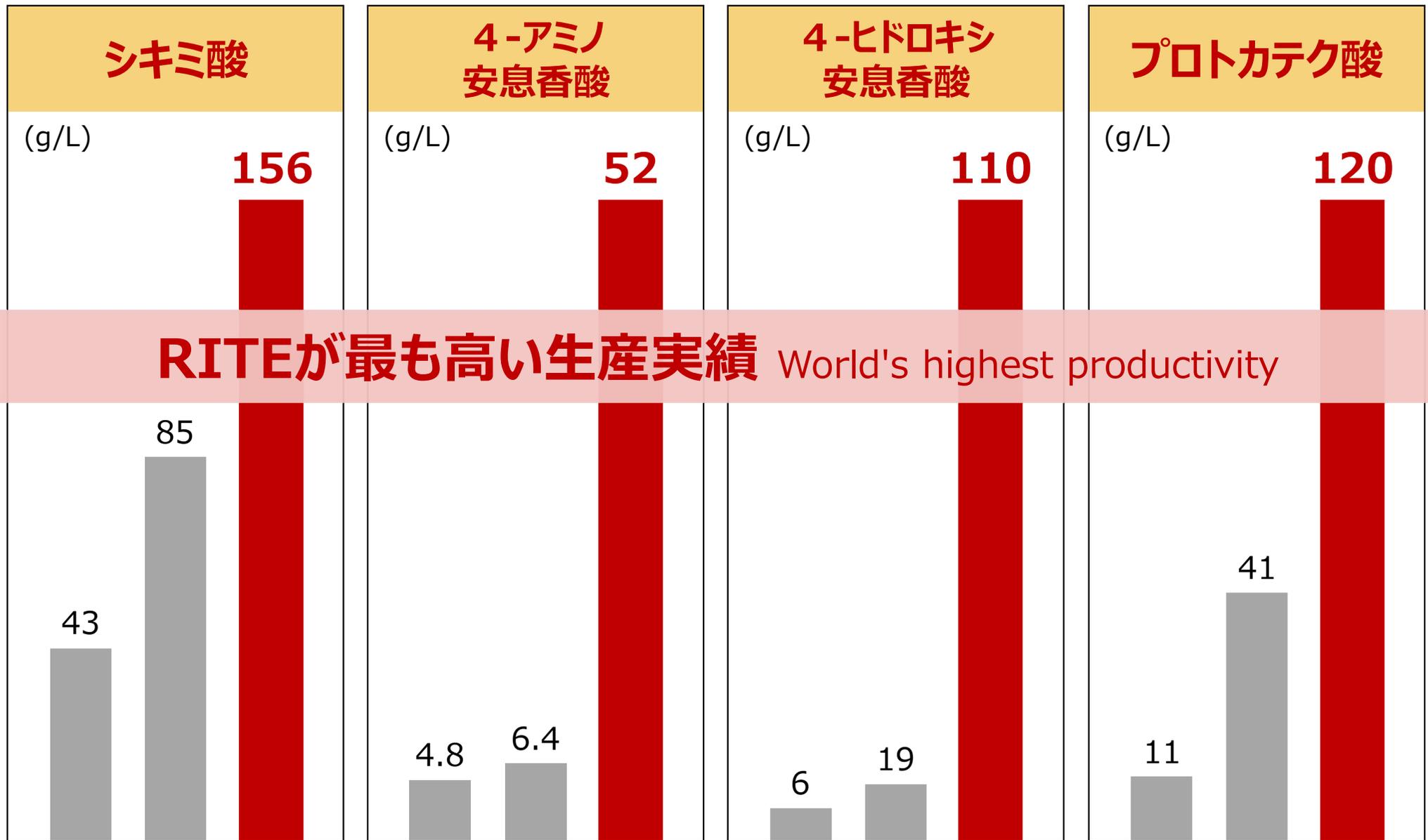
# 各微生物の芳香族化合物耐性(相対評価)

方法: 最も耐性が高かった微生物を100%とし、残りの微生物の値を縮尺して作成



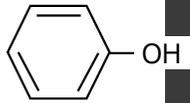
**コリネ型細菌(*C. glutamicum*)は  
全体的に高いレベルでの耐性を示した**

# RITEの競争力 (競合研究との生産濃度比較)

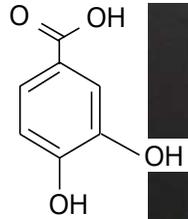


# パイロットプラントで生産試験

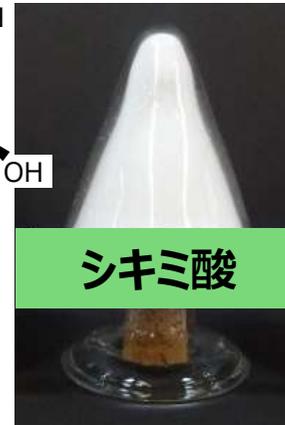
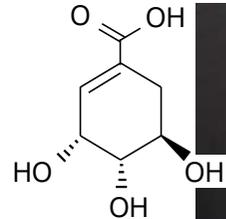
## 開発品



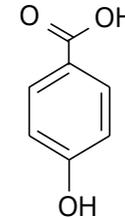
フェノール



プロトカテク酸



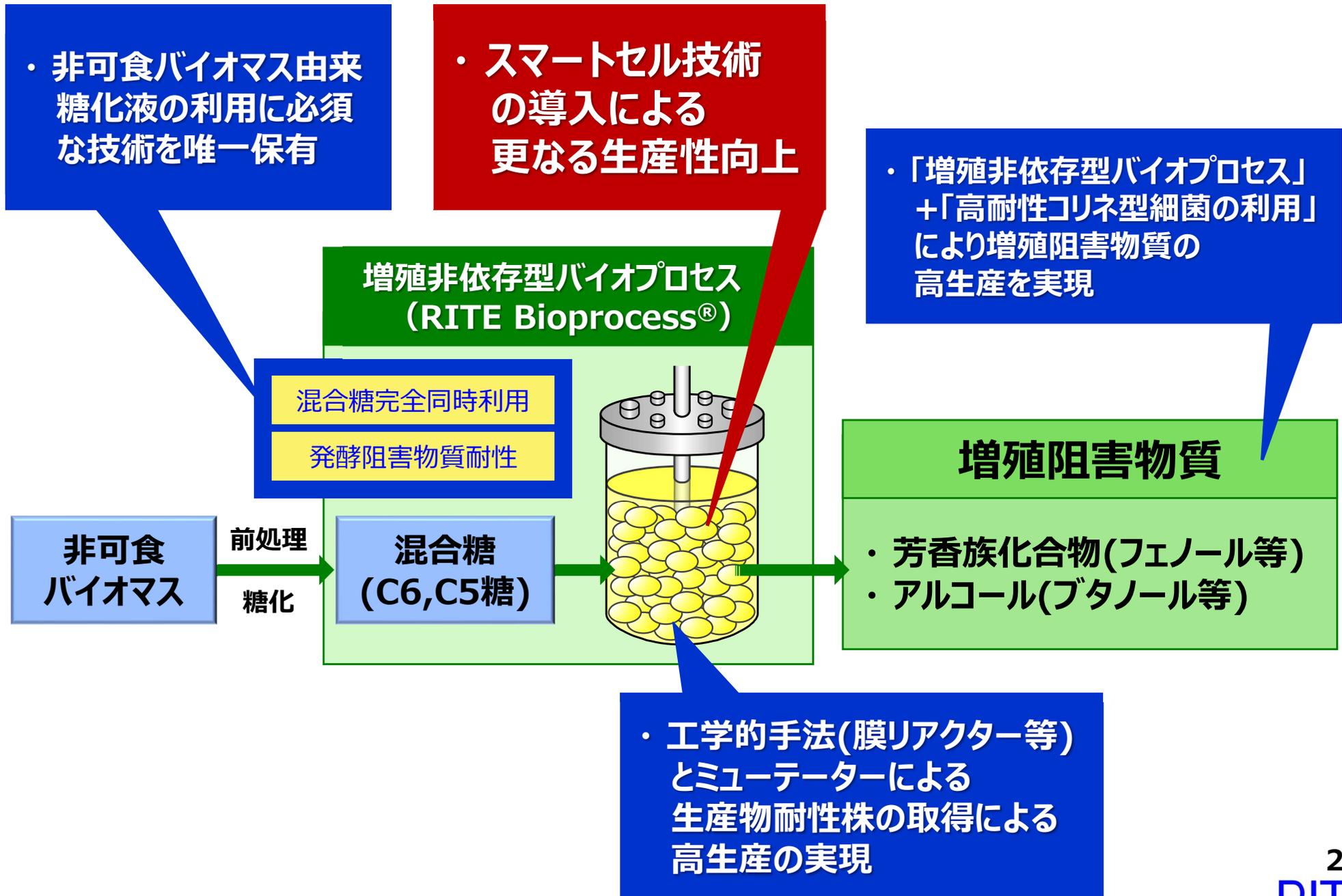
シキミ酸



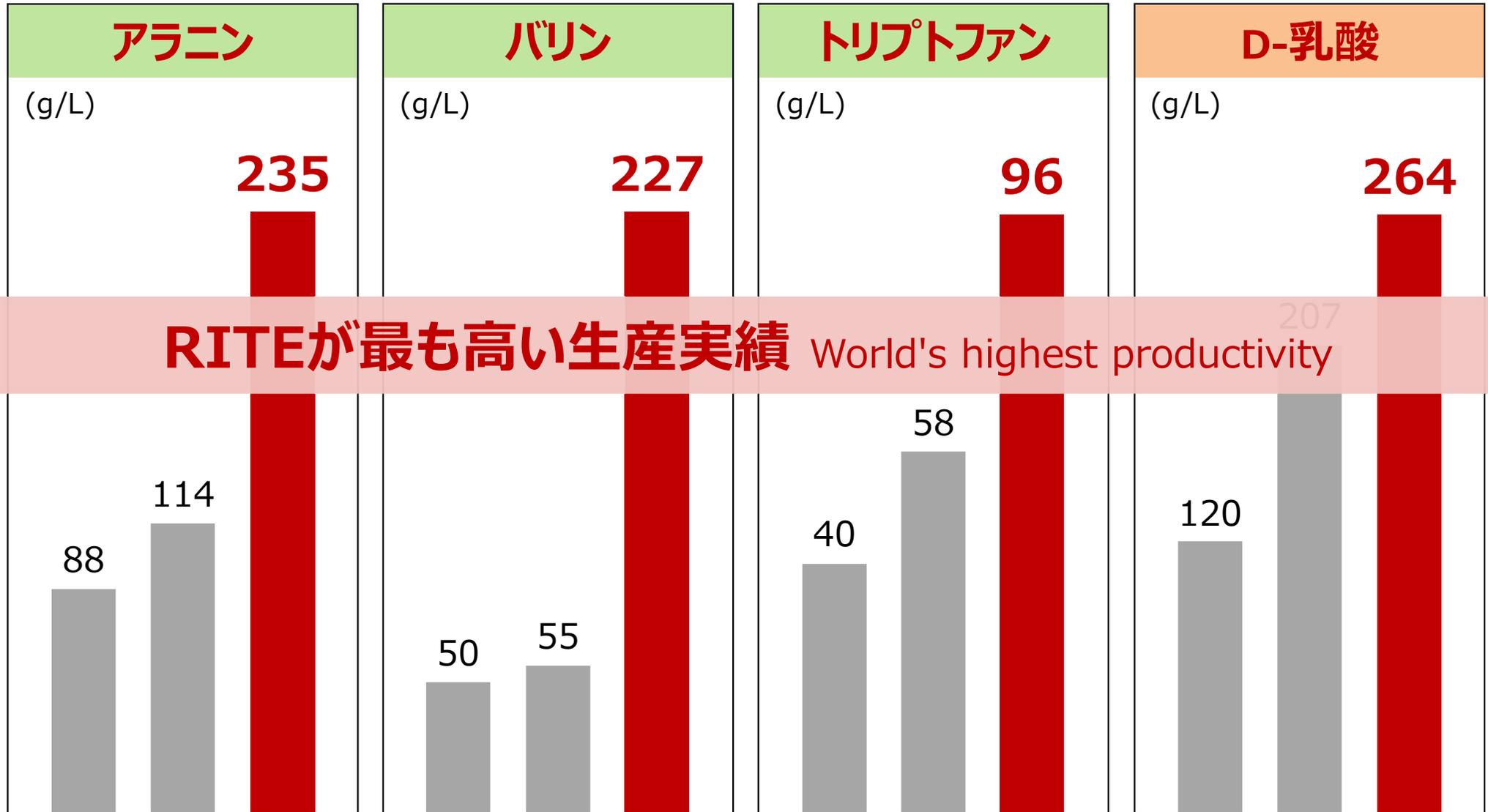
4-HBA



# 増殖阻害物質の高生産技術開発の戦略



# グリーン化学品の微生物生産



海外での商用生産の実績

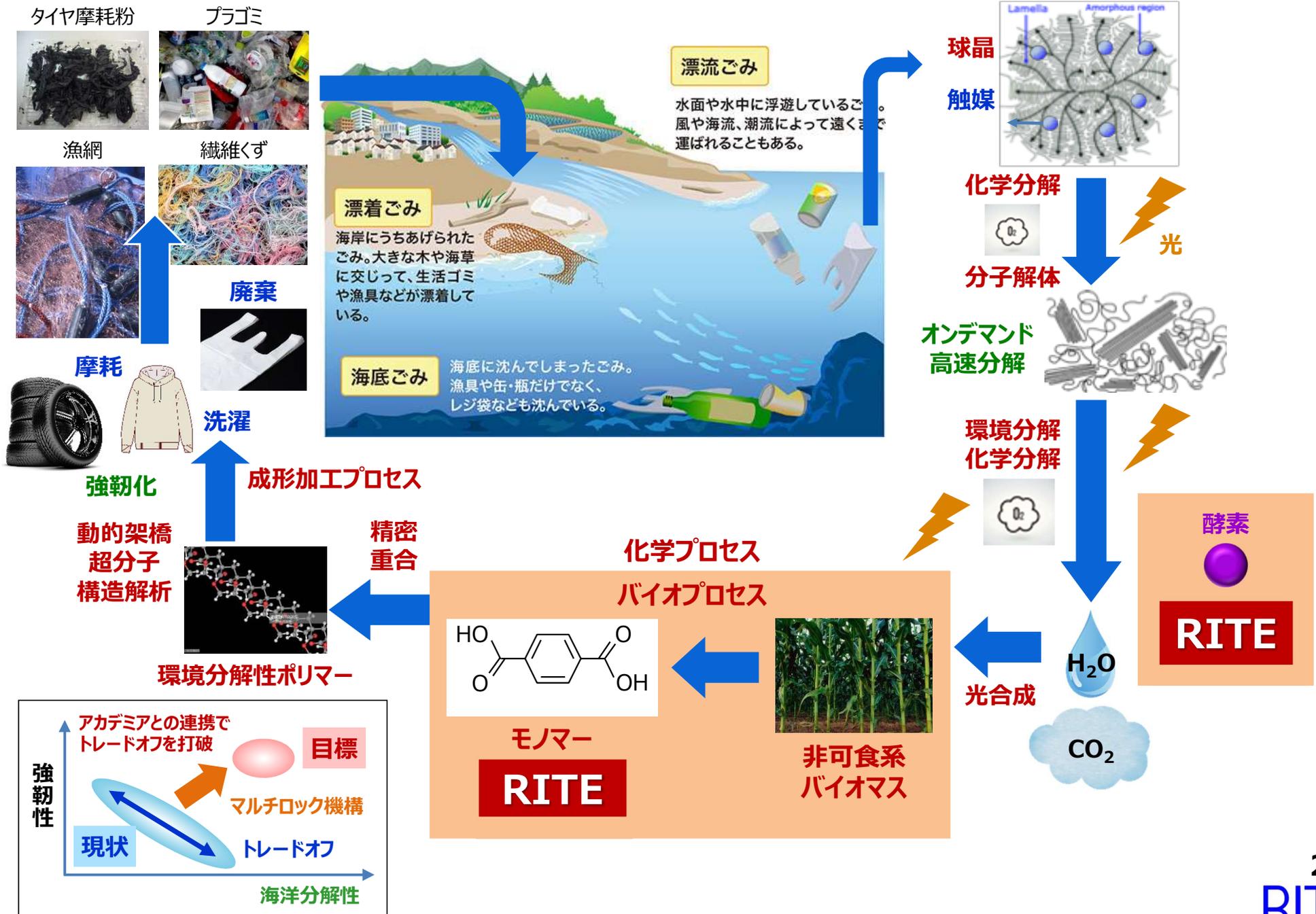
**NEDO**

# ムーンショットプロジェクト

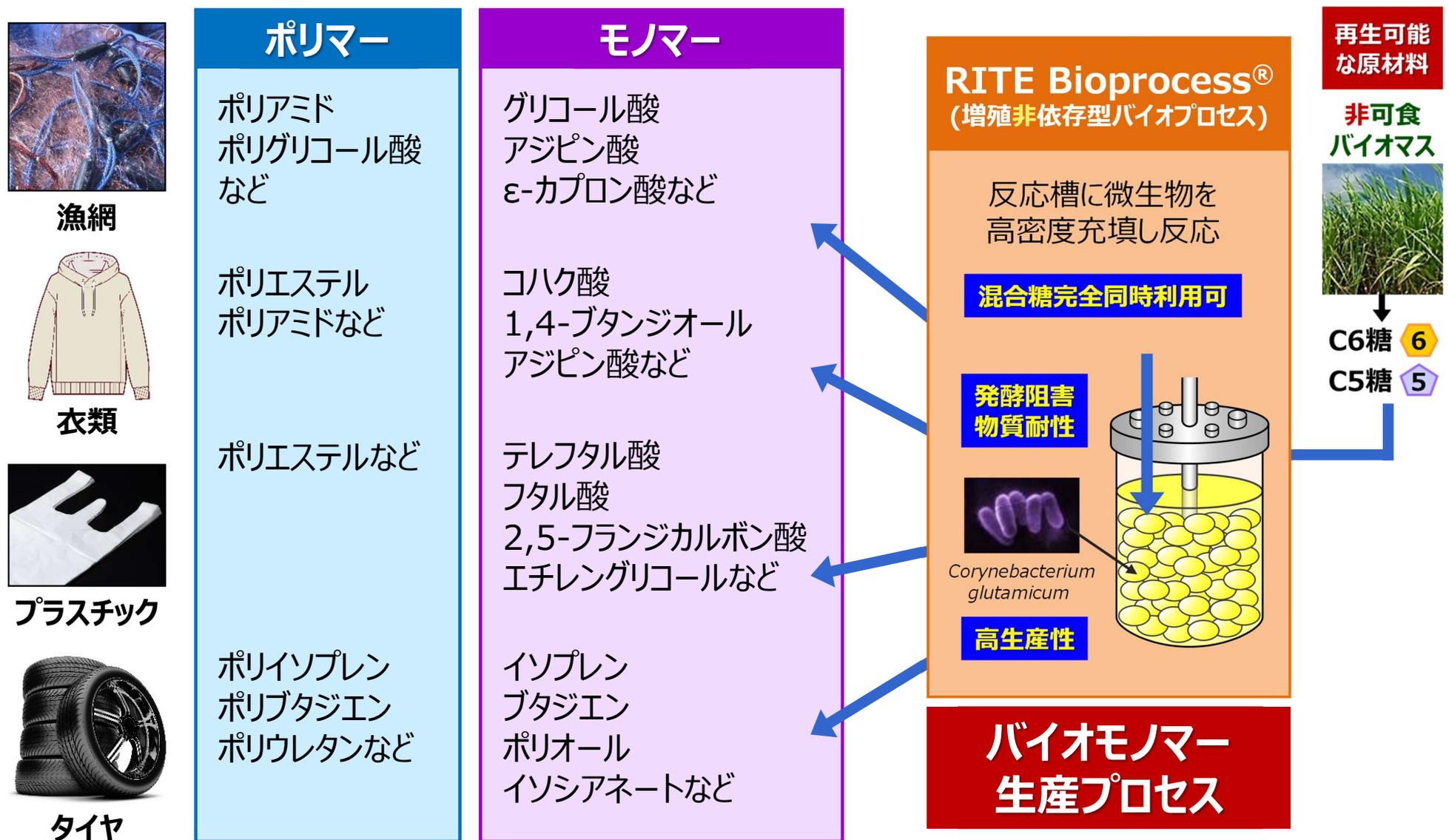
非可食性バイオマスを原料とした海洋分解可能な  
マルチロック型バイオポリマーの研究開発

# ムーンショットプロジェクト

非可食性バイオマス为原料とした海洋分解可能なマルチロック型バイオポリマーの研究開発



# 非可食性バイオマスを原料とした バイオモノマー生産プロセスの開発

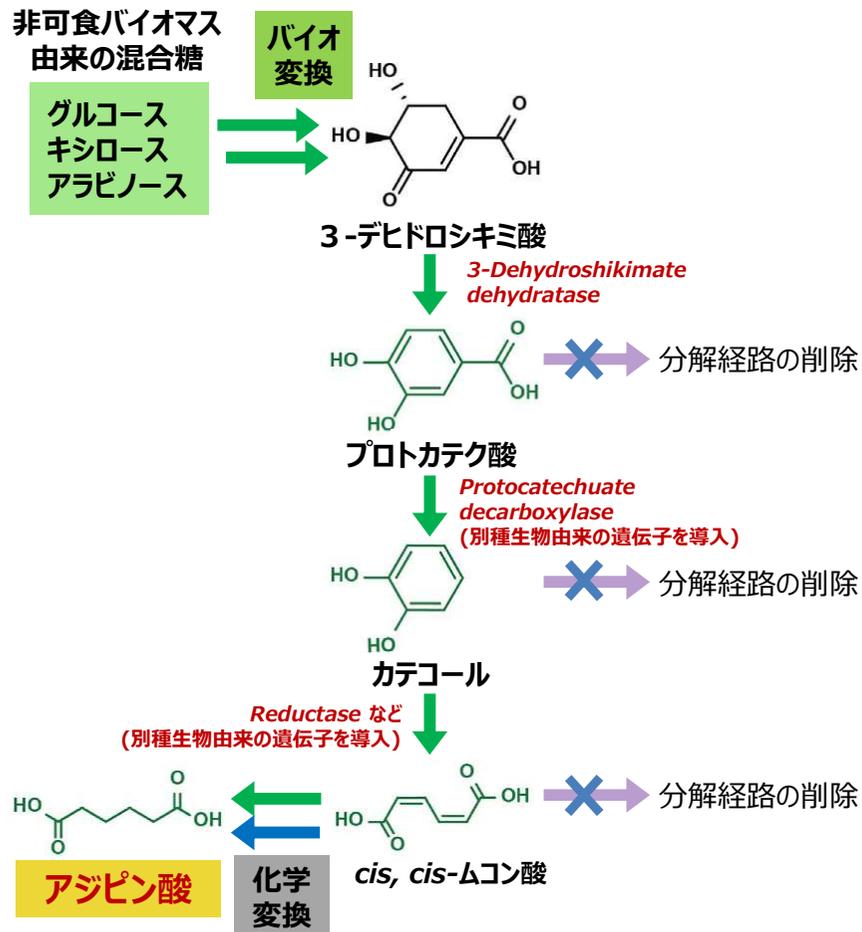


生産したバイオモノマーはマルチロック型バイオポリマー原料として使用

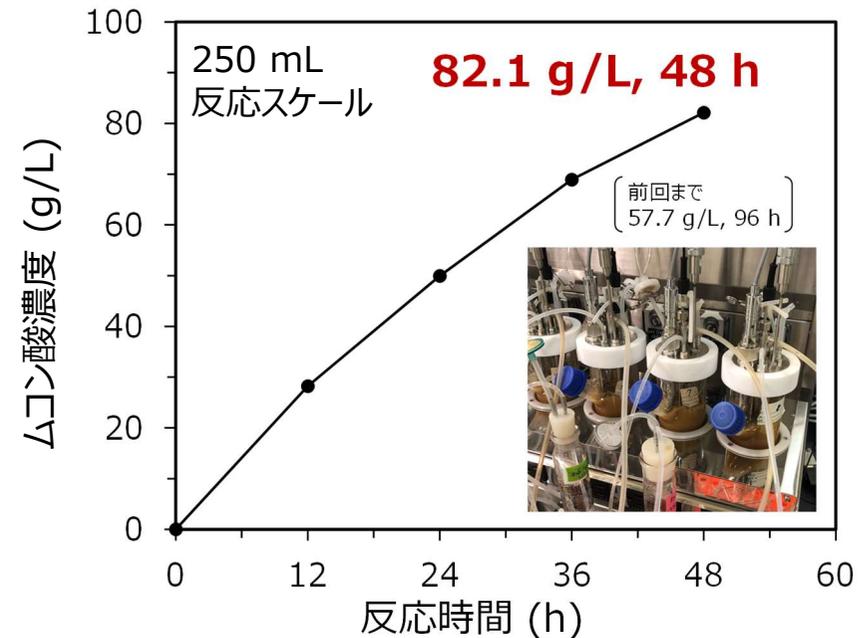
# 非可食性バイオマス原料からアジピン酸 前駆体であるcis,cis-ムコン酸のバイオ生産

- ポリアミドやポリエステル(漁網・釣具、繊維などの用途)向け原料モノマー、アジピン酸の前駆体となるcis、cis-ムコン酸のバイオ生産に成功。
- アジピン酸生成酵素について様々な遺伝子を探索中。

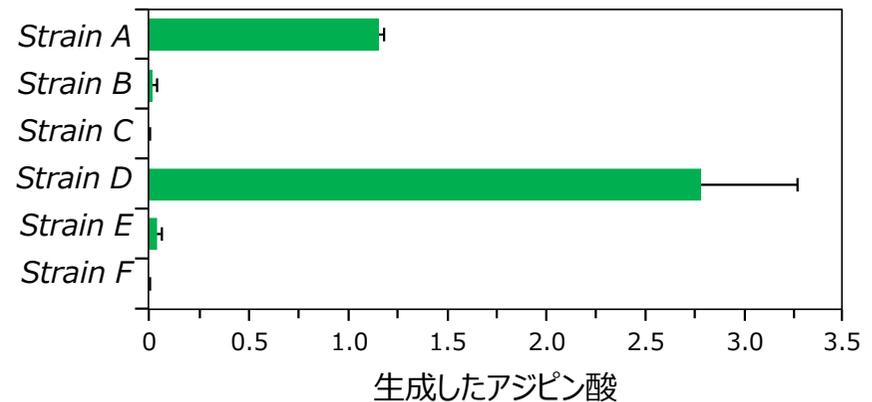
## アジピン酸の人工代謝経路



## 前駆体cis,cis-ムコン酸の生産



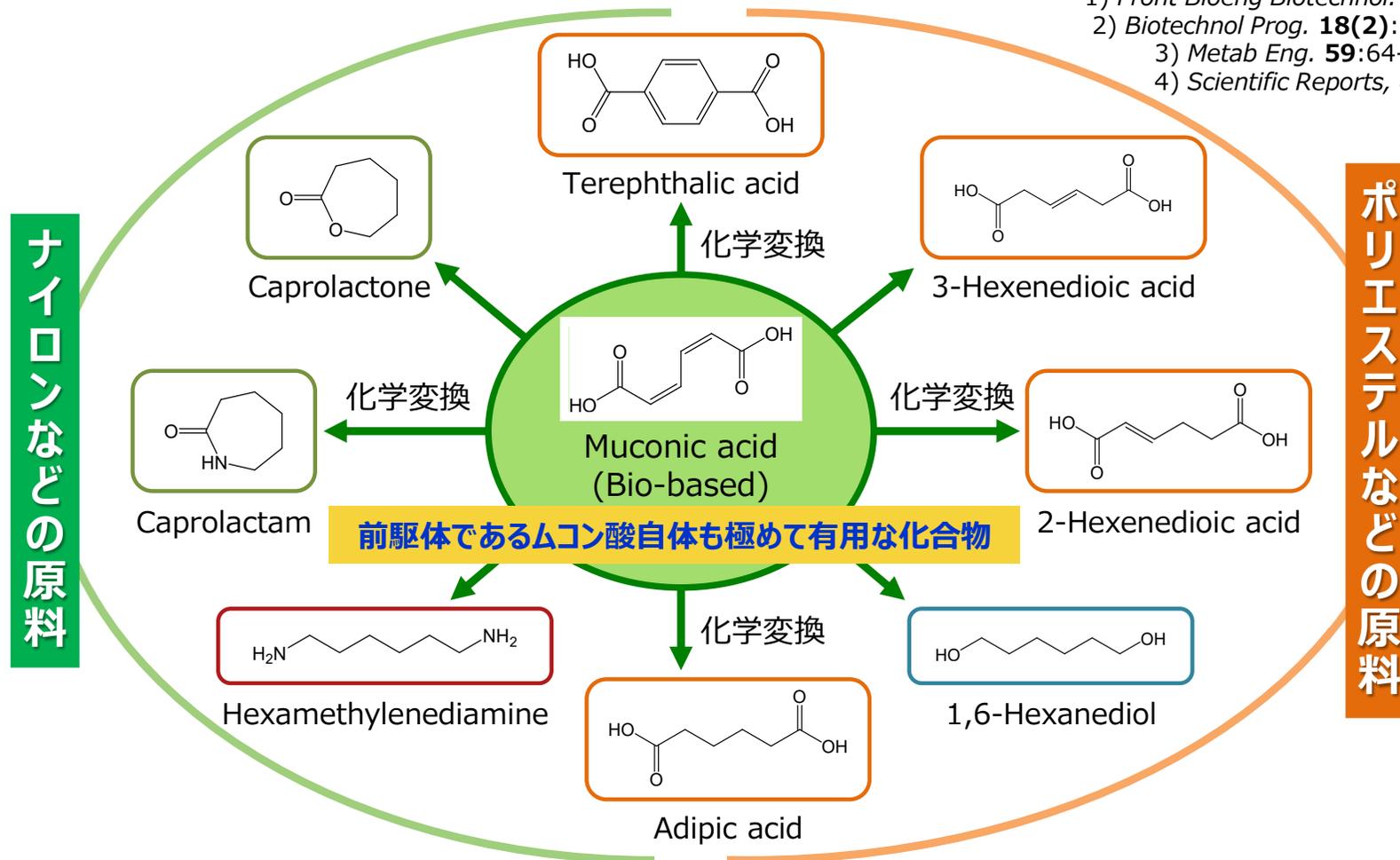
## アジピン酸生成酵素の探索



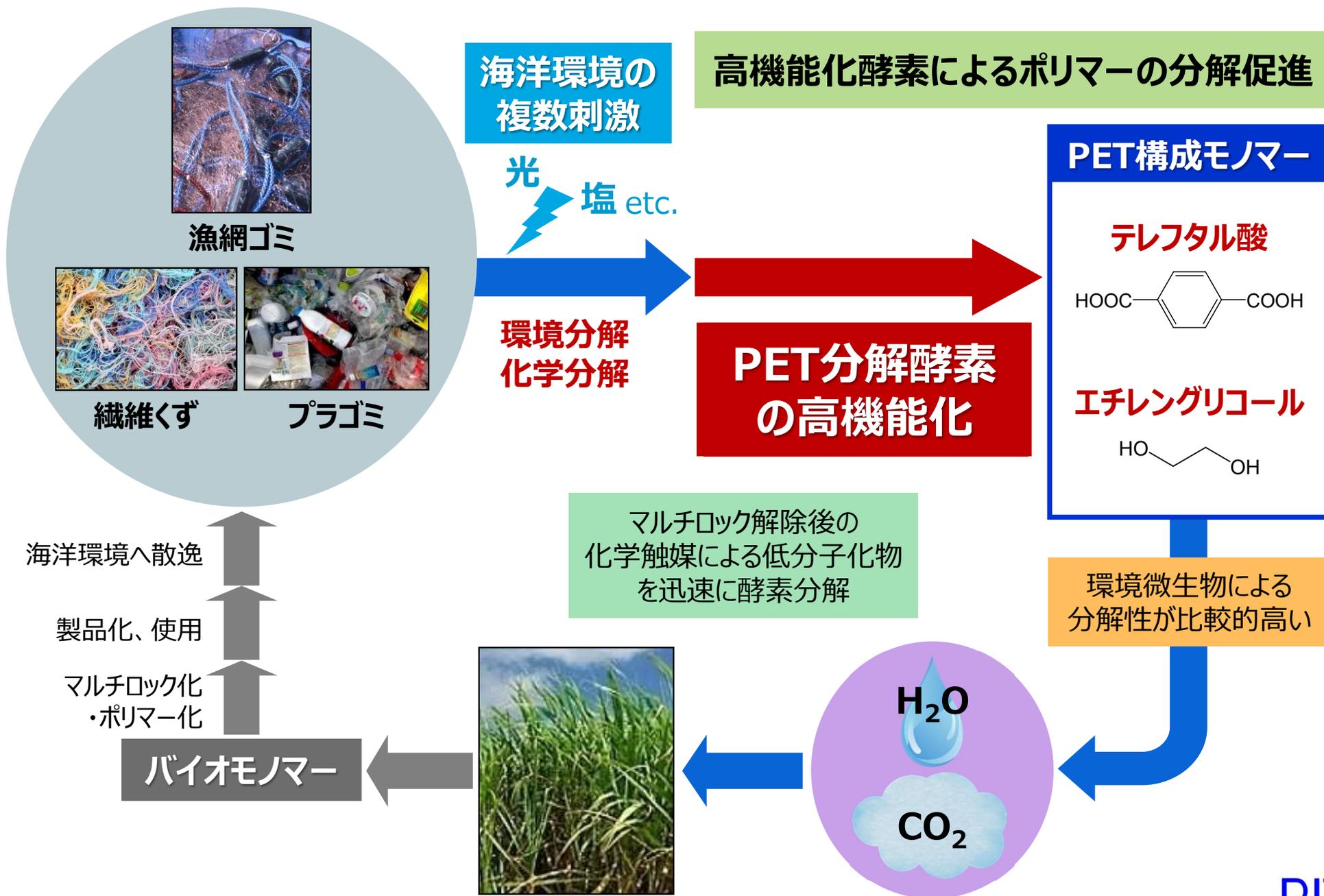
# cis, cis-ムコン酸の生産性比較と広い用途

宿主	生産量	時間	研究グループ
<i>Escherichia coli</i> <sup>1)</sup>	64.5 g/L	120 h	Choi et al., 2019. (インハ大、韓国)
<i>Escherichia coli</i> <sup>2)</sup>	36.8 g/L	48 h	Niu et al., 2002. (ミシガン州立大、アメリカ)
<i>Pseudomonas putida</i> <sup>3)</sup>	22 g/L	104 h	Bentley et al., 2020. (国立再生可能エネルギー研究所、アメリカ)
<i>Corynebacterium glutamicum</i> <sup>4)</sup>	54 g/L	168 h	Choi et al., 2018. (インハ大、韓国)
<b><i>Corynebacterium glutamicum</i></b>	<b>82.1 g/L</b>	<b>48 h</b>	<b>RITE</b>

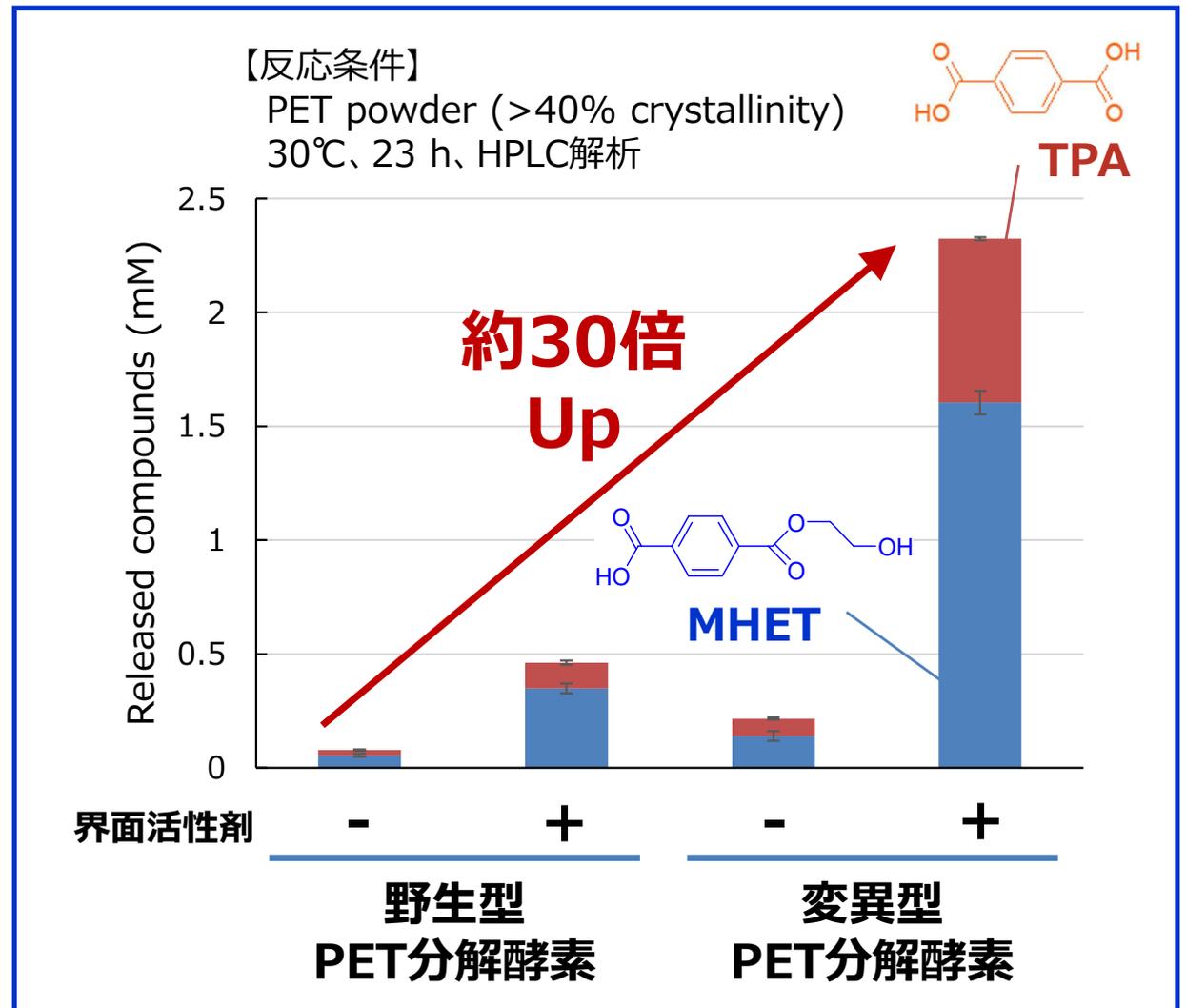
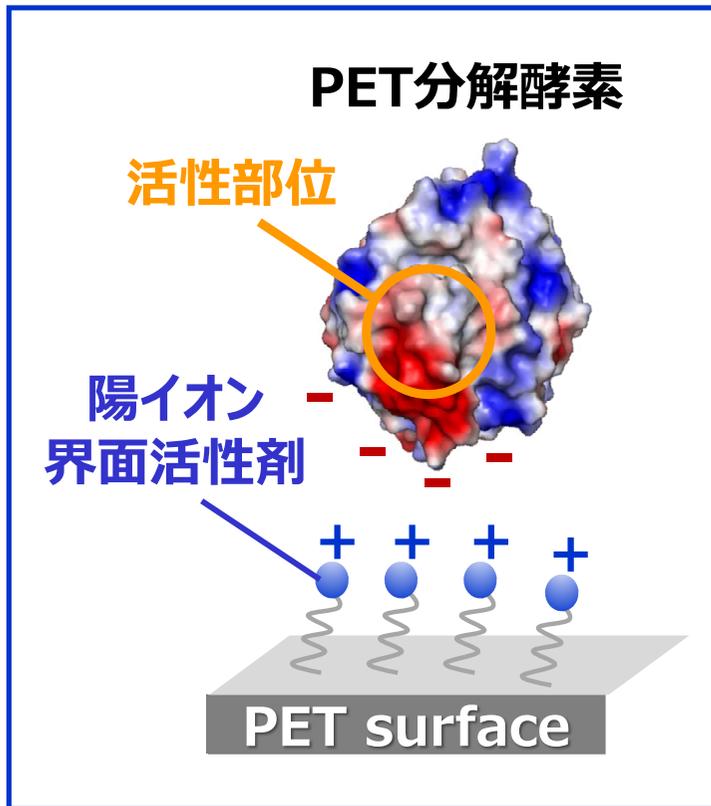
- 1) *Front Bioeng Biotechnol.* **9**:7:241. 2019.  
 2) *Biotechnol Prog.* **18(2)**:201-211. 2002.  
 3) *Metab Eng.* **59**:64-75. 2020.  
 4) *Scientific Reports*, **8**:18041. 2018.



# マルチロック型分解機構の開発 「ポリマー分解酵素の高機能化」

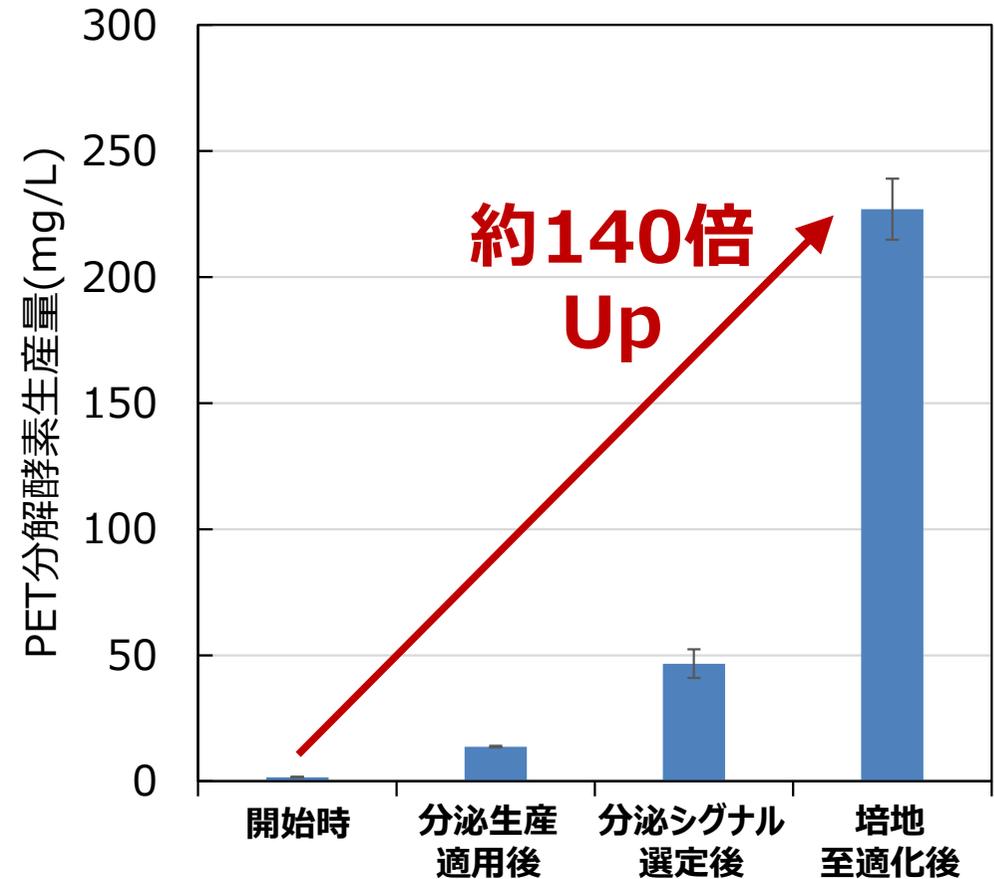
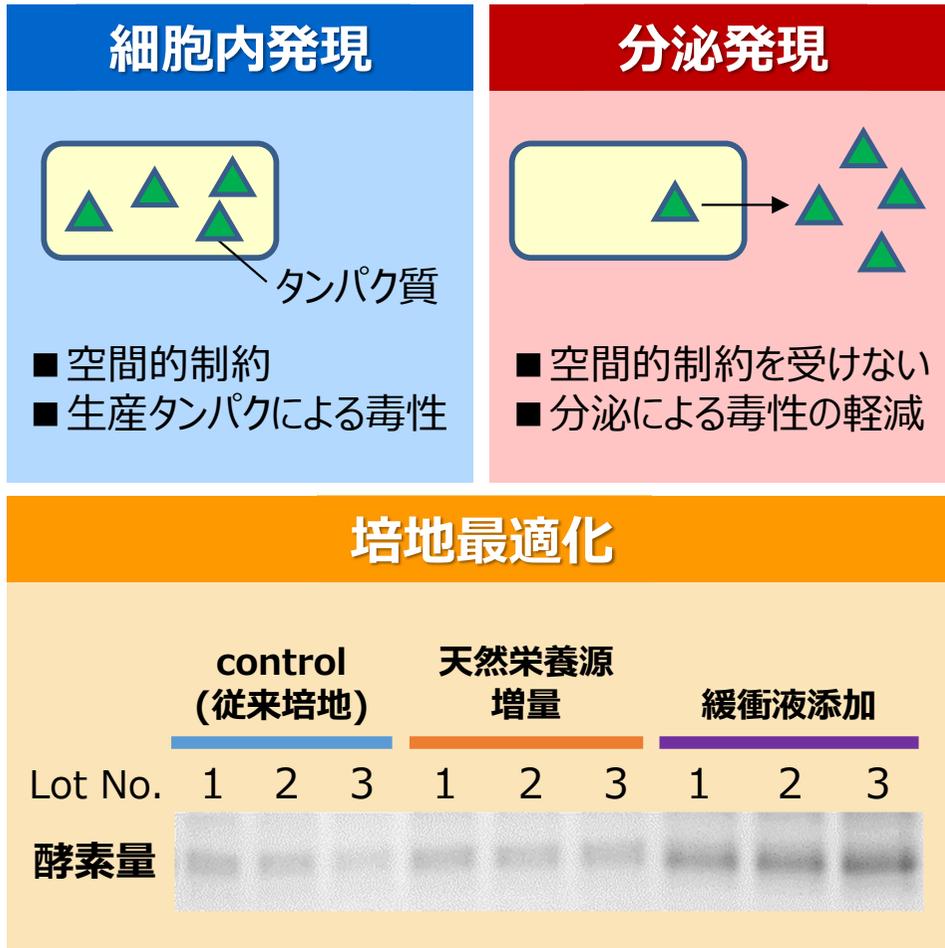


# PET分解酵素の改変と 陽イオン界面活性剤添加による活性向上



酵素改変と極低濃度の陽イオン界面活性剤を添加した結果、  
野生型酵素と比べて約30倍と顕著な活性向上に成功

# PET分解酵素の生産量向上



分泌発現の適用、分泌シグナルの選定、培地最適化を組み合わせると  
約140倍の生産量向上に成功

# CO<sub>2</sub>を原料とした バイオ生産への挑戦

# CO<sub>2</sub>固定経路とバイオものづくりへの適応

## 自然界に存在する炭酸固定経路と酵素

### 炭酸固定経路と生物

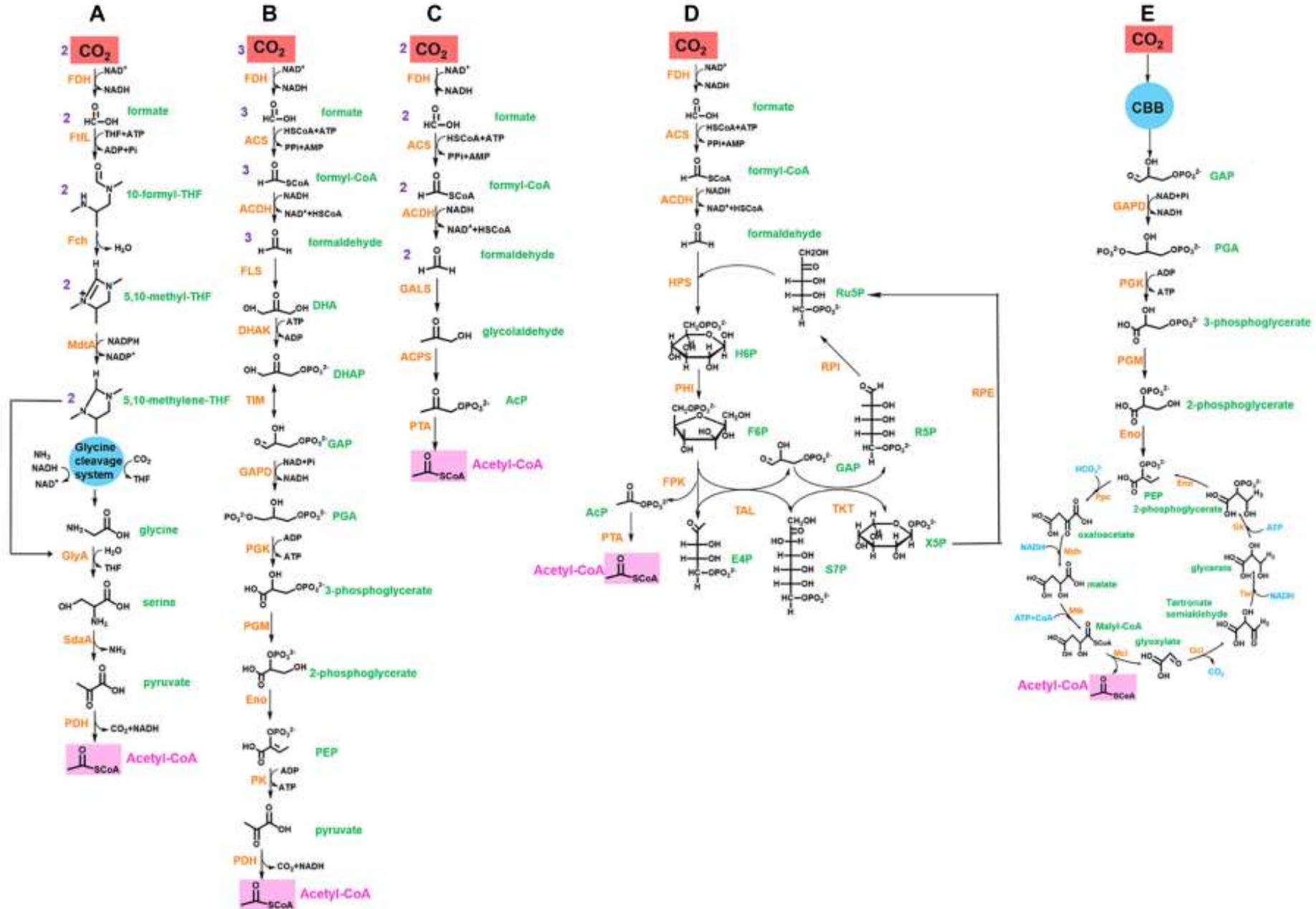
独立栄養的炭酸固定経路	当該炭酸固定経路が機能している生物
カルビン-ベンソンサイクル	ラン藻、プロテオバクテリア、藻類、植物
アセチル-CoA経路	グラム陽性菌、プロテオバクテリア、プランクトミセス、ユーリアーキオータ
3-ヒドロキシプロピオン酸サイクル	緑色非硫黄細菌
3-ヒドロキシプロピオン酸／4-ヒドロキシ酪酸サイクル	クレーンアーキオータとユーリアーキオータ
ジカルボキシル酸／4-ヒドロキシ酪酸サイクル	クレーンアーキオータ
還元的TCAサイクル	プロテオバクテリア、緑色硫黄細菌、アクイフェックス・ハイドロジェノバクター、クレーンアーキオータ

### 炭酸固定酵素と炭酸固定経路

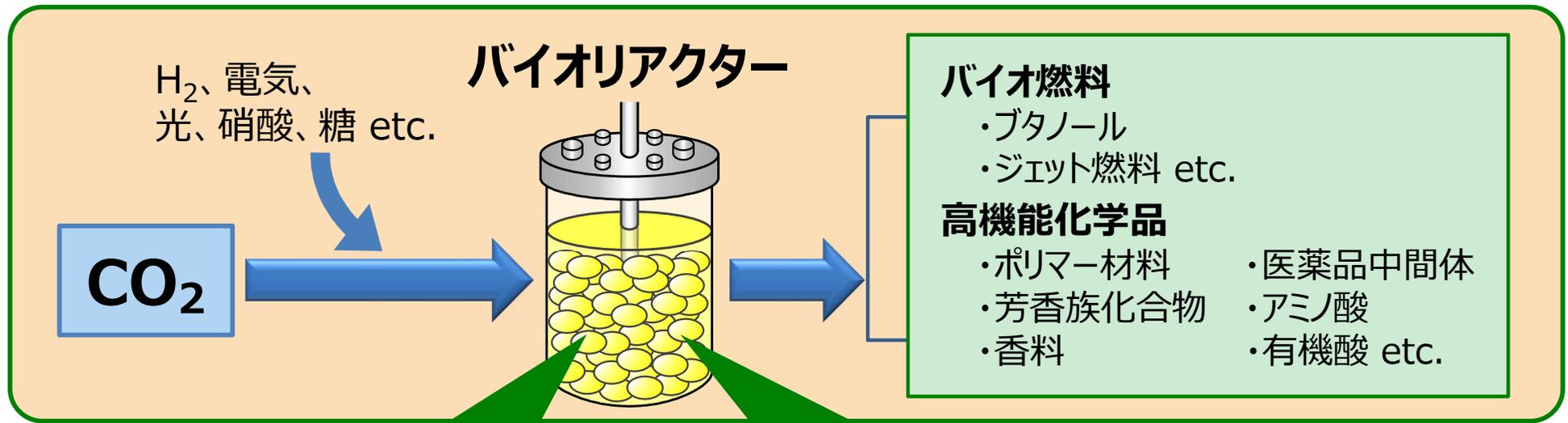
炭酸固定酵素	当該炭酸固定酵素が関わっている炭酸固定経路
RubisCO	カルビン-ベンソンサイクル
アセチル-CoA カルボキシラーゼ	3-ヒドロキシプロピオン酸サイクル、3-ヒドロキシプロピオン酸／4-ヒドロキシ酪酸サイクル
プロピオニル-CoA カルボキシラーゼ	3-ヒドロキシプロピオン酸サイクル、3-ヒドロキシプロピオン酸／4-ヒドロキシ酪酸サイクル
ピルビン酸：フェレドキシン酸化還元酵素	ジカルボキシル酸／4-ヒドロキシ酪酸サイクル、還元的TCAサイクル
ピルビン酸 (ホスホエノールピルビン酸) カルボキシラーゼ	ジカルボキシル酸／4-ヒドロキシ酪酸サイクル、還元的TCAサイクル
2-オキソグルタル酸：フェレドキシン酸化還元酵素	還元的TCAサイクル
2-オキソグルタル酸カルボキシラーゼ	還元的TCAサイクル

# CO<sub>2</sub>固定経路とバイオものづくりへの適応

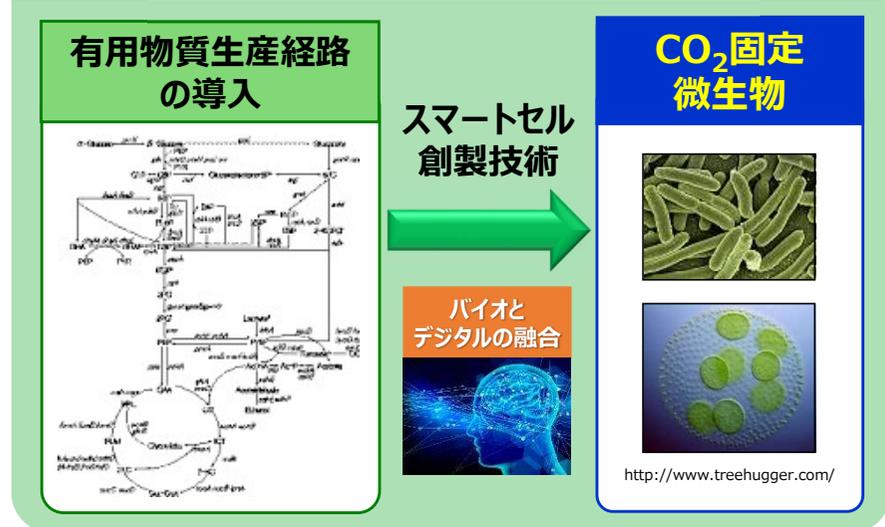
## “人工”炭酸固定経路



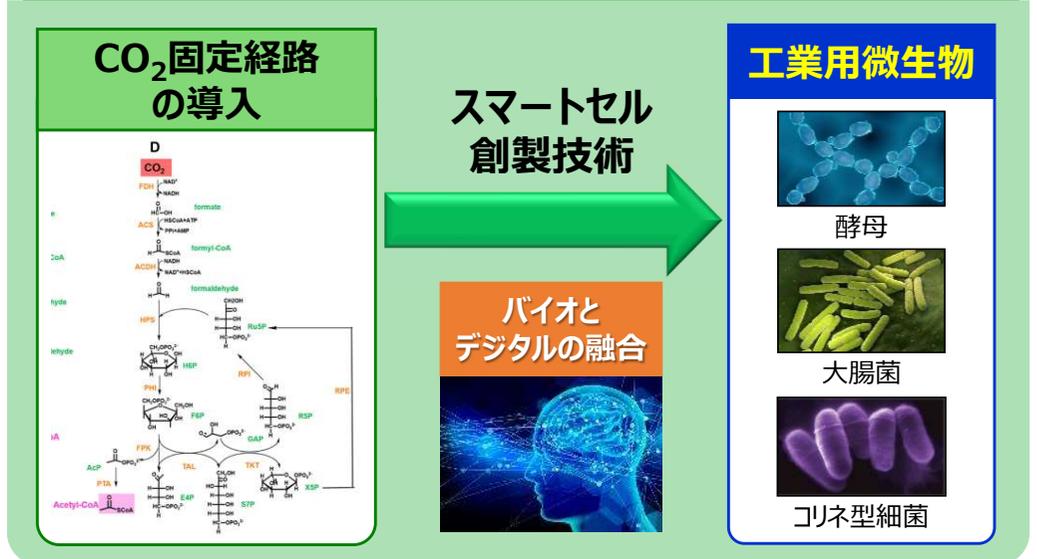
# CO<sub>2</sub>固定微生物によるバイオものづくり



## CO<sub>2</sub>固定微生物の改良： 有用物質生産経路の導入



## 工業微生物へのCO<sub>2</sub>固定経路の導入



出典：Front Microbiol. 9;11:592631. 2020.

# 高速CO<sub>2</sub>固定の実現

コリネ型細菌により、光合成を行う微細藻類よりも  
1 オーダー高い CO<sub>2</sub>固定速度 を実現

	微細藻類 	コリネ型細菌 
<b>CO<sub>2</sub>最大固定速度</b>	 <p>約35倍のCO<sub>2</sub>固定能力</p>	<p>4.4</p>
<b>生産物</b>	ジェット燃料原料	生分解性プラスチック原料
<b>特徴</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 光が必要</li> <li>■ 広大な水槽が必要</li> <li>■ 広大な土地が必要</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 光が不要</li> <li>■ 広大な水槽は不要</li> <li>■ 広大な土地は不要</li> </ul>

\* 「CO<sub>2</sub>固定化・隔離の最新技術」、(株)シーエムシー、2000年

\*\* RITEデータ

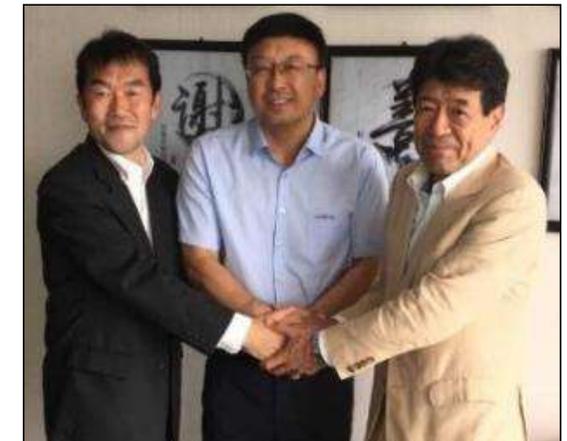
# 実用化に向けた取り組み

# 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ラボ
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	<p><b>【アミノ酸】</b> 工業用、食品用アミノ酸 (アラニン、バリン) 海外での商用生産の実績</p> <p><b>【バイオ燃料】</b> 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 国産バイオジェット燃料の製造に成功</p> <p><b>【化粧品原料】</b> 化粧品用エタノールの国内販売実施</p>



Green Earth 研究所



海外メーカーとのコラボレーション

右：RITE本庄専務理事  
左：GEI伊原代表取締役

# 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	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ RITE内</li> <li>・ 住友ベークライト(株) 静岡工場内</li> </ul>
事業内容	グリーンフェノール開発で培った技術を基盤に、各種グリーン化学品の製造技術に展開し、早期事業化を目指す。
開発品	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)c1ccc(O)c(O)c1</chem>    <b>プロトカテク酸</b> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)C1C(O)C(O)C(O)C1</chem>    <b>シキミ酸</b> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>O=C(O)c1ccc(O)cc1</chem>    <b>4-HBA</b> </div> </div>



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

  
 地球環境産業技術研究機構(RITE)

  
**住友ベークライト株式会社**  
 住友ベークライト(株)




**グリーンケミカルズ(株)(GCC)**

# RITE バイオ研究グループ



↑ RITE バイオ研究グループメンバー

← 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)メンバー

# ご清聴ありがとうございました

## 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

〒619-0292 京都府木津川市木津川台9-2  
TEL : 0774-75-2308  
FAX : 0774-75-2321  
代表E-mail : [mmg-lab@rite.or.jp](mailto:mmg-lab@rite.or.jp)

