

**未来社会を支える温暖化対策技術シンポジウム in 関西**  
**2021年9月30日**

# **カーボンニュートラルの実現を目指した 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

- カーボンニュートラルの動向
- RITEバイオプロセス

## (2) 研究開発

- バイオ燃料; バイオジェット燃料生産
- グリーン化学品; 芳香族化合物生産

## (3) 基盤技術開発

- NEDOスマートセル
- SIP戦略的イノベーション
- NEDOムーンショット

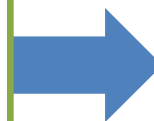
## (4) 実用化事業

- GEI (Green Earth Institute株式会社)
- GCC (グリーンケミカルズ株式会社)

# 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

# バイオリファイナー

非可食  
バイオマス



C6糖 6  
C5糖 5

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

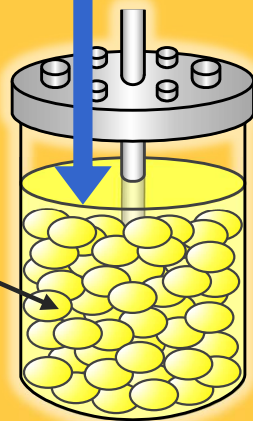
混合糖完全同時利用可

発酵阻害  
物質耐性



*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



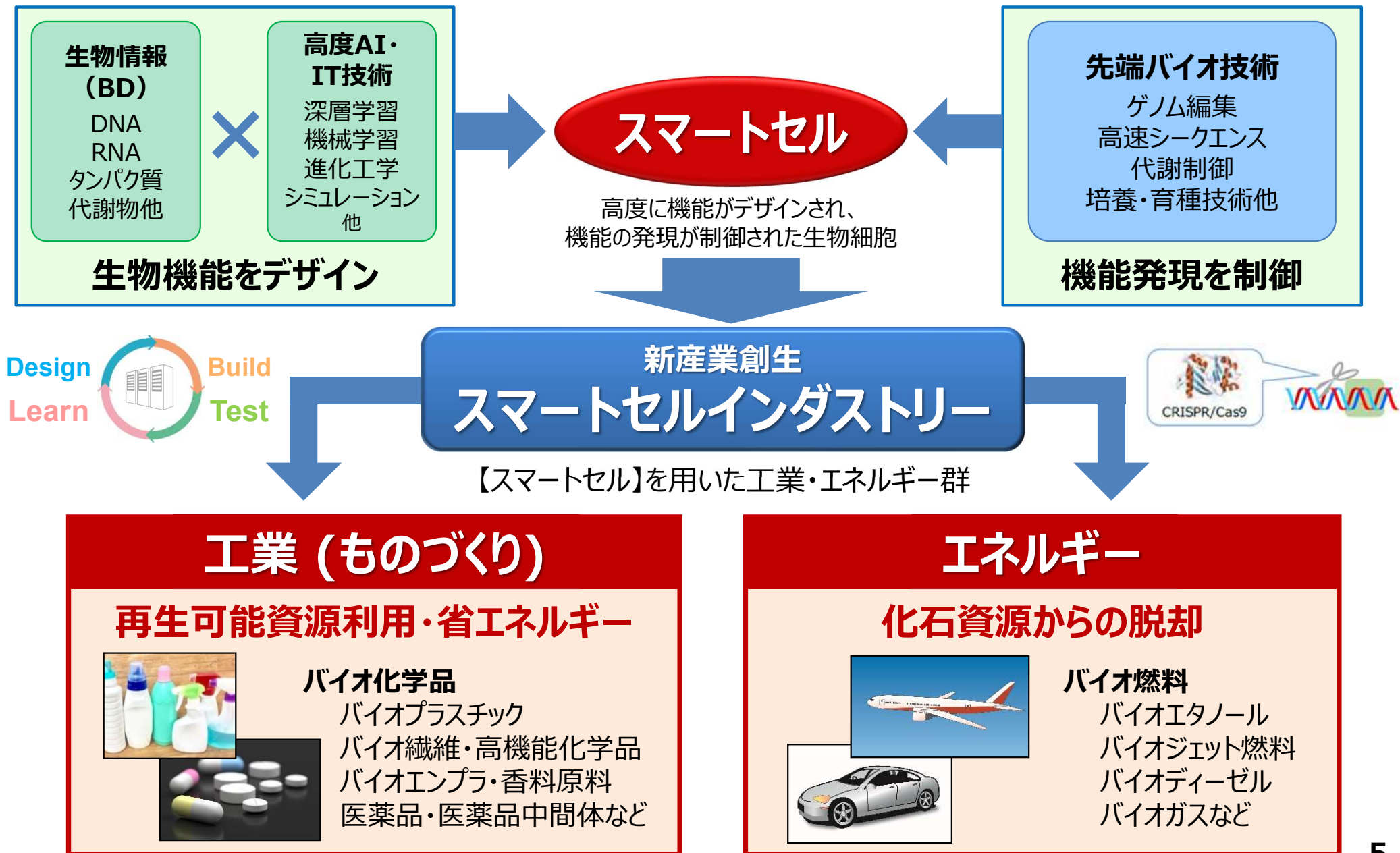
## グリーン化学品

- ・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

自動車部材、包装材、電気製品部材、  
炭素繊維、各種樹脂等



# バイオ×デジタルが変える工業／エネルギー分野



# 増殖非依存型バイオプロセスの概念図

## RITE Bioprocess®

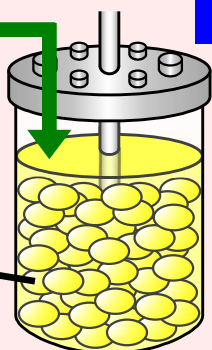
反応槽に微生物を高密度充填し反応

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	JP4712716	JP4927297
JP4451393	US8604180	US7598063
US7368268	DE602004026192.0	JP4294373
EP1647594	FR1647594	

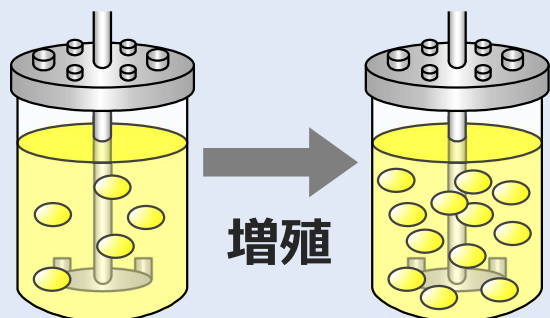
微生物が増殖しないため、

- 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
- 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

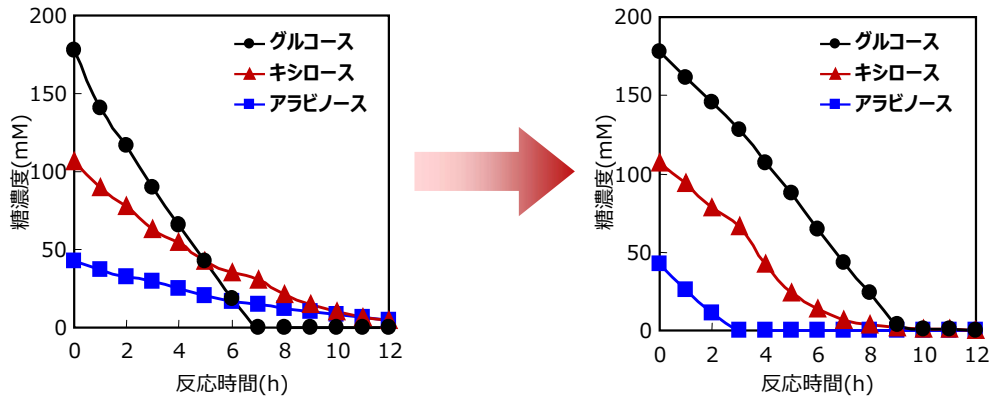


# 非可食バイオマス为原料とする 必須要素技術の基礎確立

## 混合糖完全同時利用

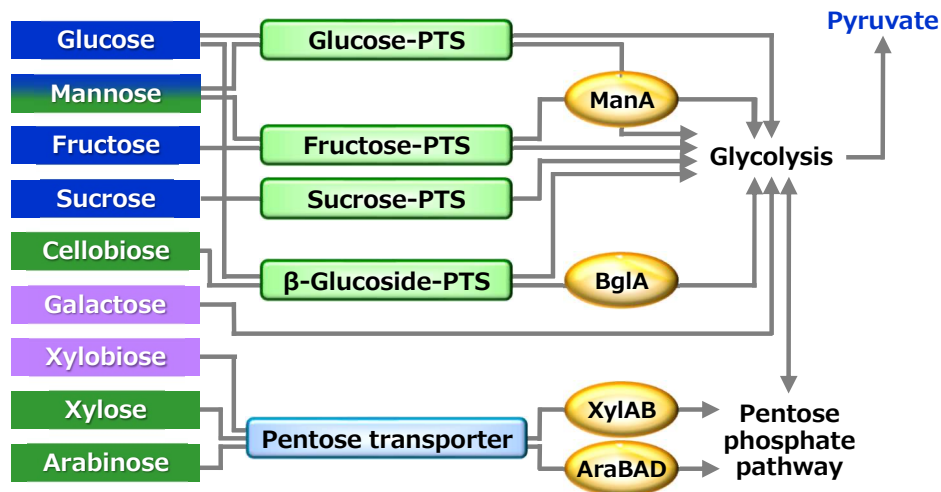
ペントーストランスポーターの導入による混合糖同時利用能の向上  
(増殖非依存型バイオプロセス(RITE Bioprocess®))

Pentose transporter 遺伝子(*araE*) 導入



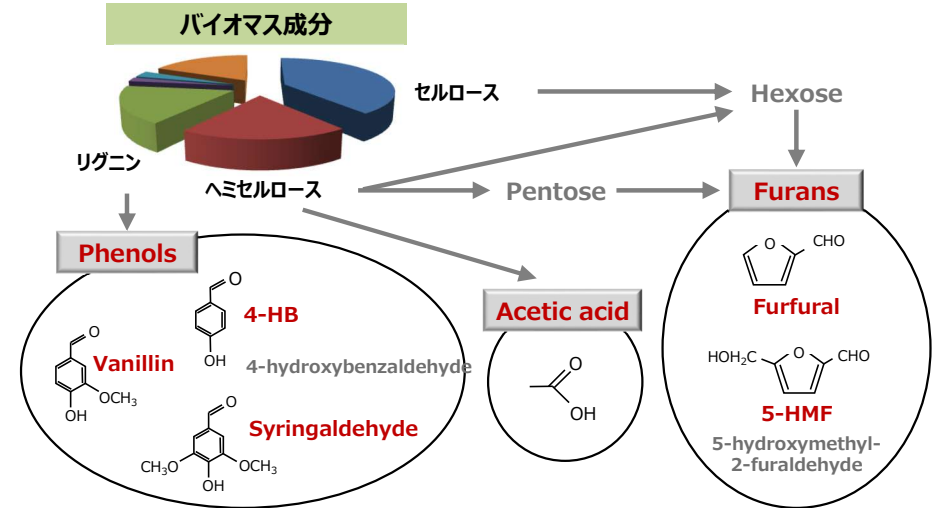
RITE論文: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**:105-115. 2009.

## *C. glutamicum* R株による糖代謝利用能



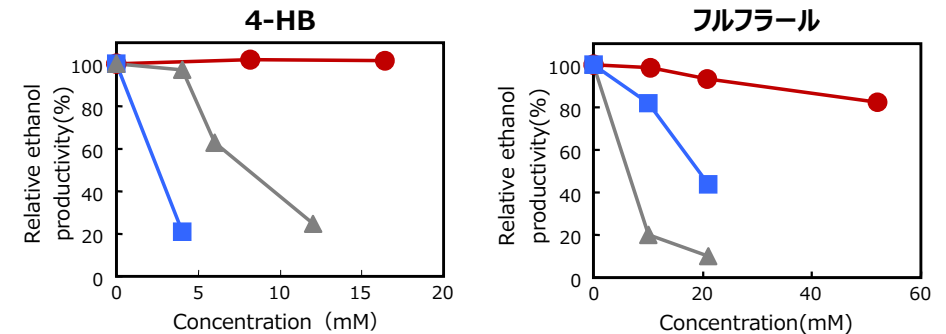
## 発酵阻害物質耐性

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®

## 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

## 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)
- 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)

赤字; 世界最高の生産性を達成済

\*; ポリマー原料



# バイオ燃料 生産技術の開発

# バイオブタノール製造技術

## 原料バイオマス

### 非可食バイオマス



### 食糧系バイオマス

## 製造技術 (微生物変換)

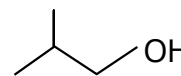


METI 国際共同研究開発  
プロジェクト (H27~R1年)

**RITE**



Butamax  
Gevo



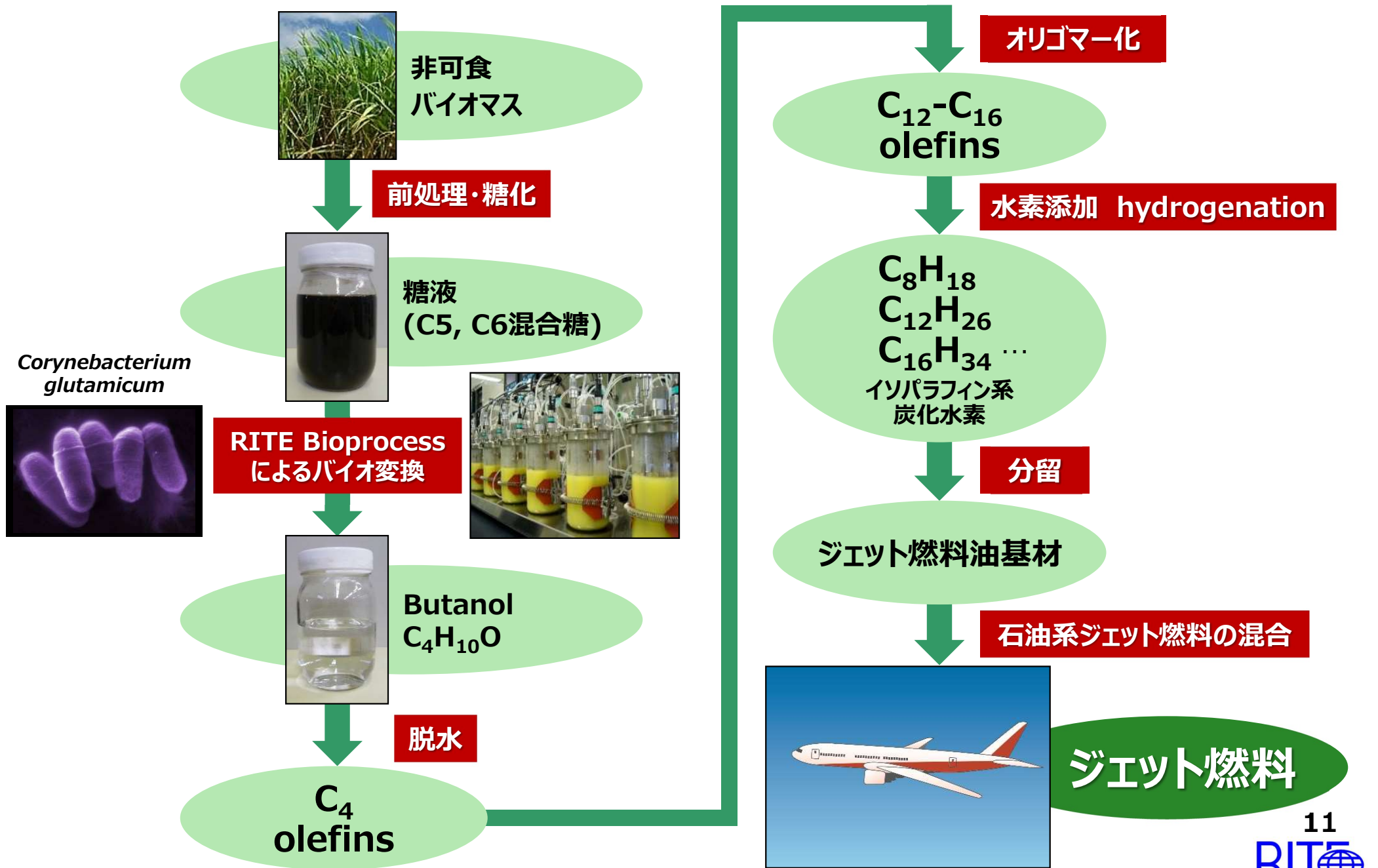
Eastman Chemical (TetraVitae)  
Ji-An Biochemical Co., Ltd.  
Cathay Industrial Biotechnology Co., Ltd.  
Green Biologics

オリゴマー化

- 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

# バイオブタノールからのグリーンジェット燃料プロセス



10万着で飛ばそう!

**Fly for it!**  
一着なら、もっと飛べる。

# RITEの技術を利用し、古着から製造した 日本初の純国産バイオジェット燃料を搭載したフライトが実現

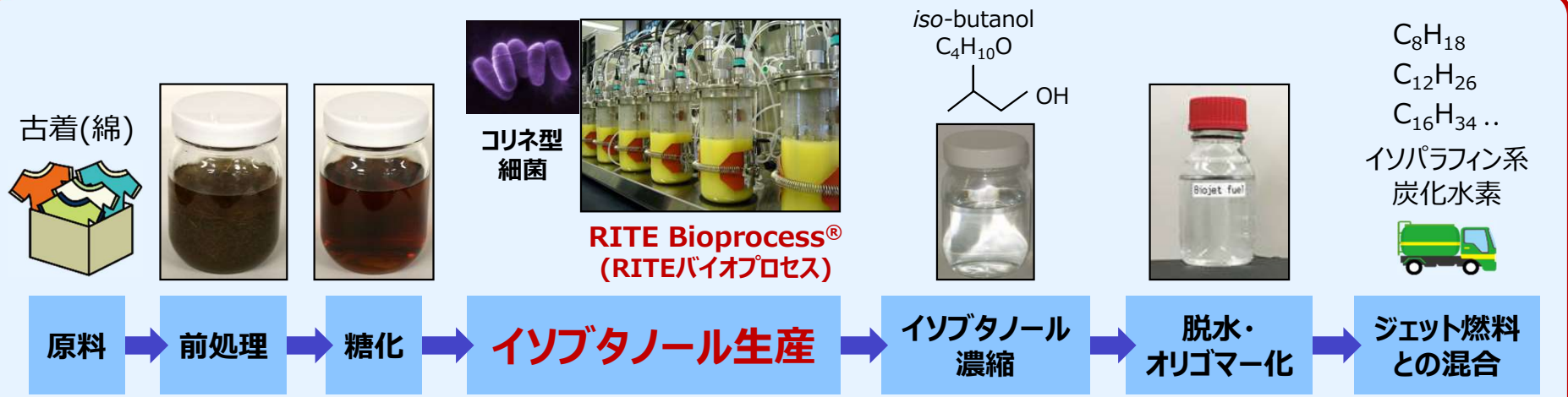


## 1. 服を集める

日本環境設計株式会社の協力のもと、全国から古着を回収。

## 2. ジェット燃料をつくる

RITEが開発したバイオプロセスを使用し、GEI社の技術的サポートのもと、衣料品から国産バイオジェット燃料の製造に挑戦。



"RITE Bioprocess" is a registered trademark of RITE.

## 3. 飛行機を飛ばす!



2020年3月、バイオジェット燃料の  
国際規格である  
ASTM D7566 Annex5 Neat  
の適合検査に合格!!



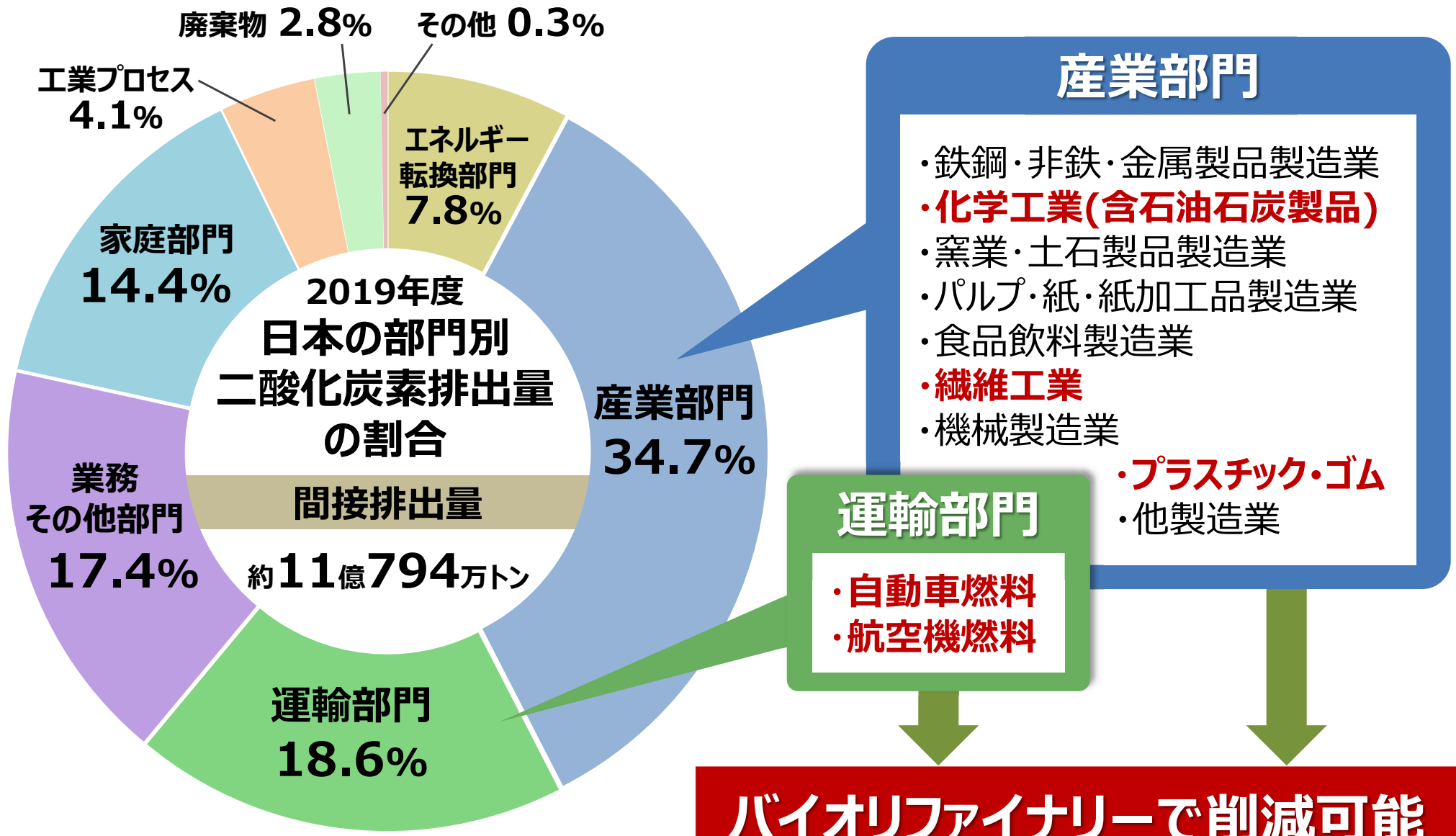
## このバイオジェット燃料を搭載 した商用フライトが実現!

【搭載便】  
日時：2021年2月4日(木)  
便名：JL319便 (東京(羽田)発、  
福岡行、定刻13:00発)  
機材：ボーイング 787-8型機

■日本航空株式会社 <https://press.jal.co.jp/ja/items/uploads/8bf002f6a11efa39e8224788b4d3b55cbe7892d9.pdf>  
■日本環境設計株式会社 <https://www.jeplan.co.jp/2021/01/29/9440/>  
■Green Earth Institute株式会社 [http://gei.co.jp/ja/img/newsrelease/news\\_20210128.pdf](http://gei.co.jp/ja/img/newsrelease/news_20210128.pdf)  
■RITE <https://www.rite.or.jp/bio/info/20210128news.pdf>

# 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

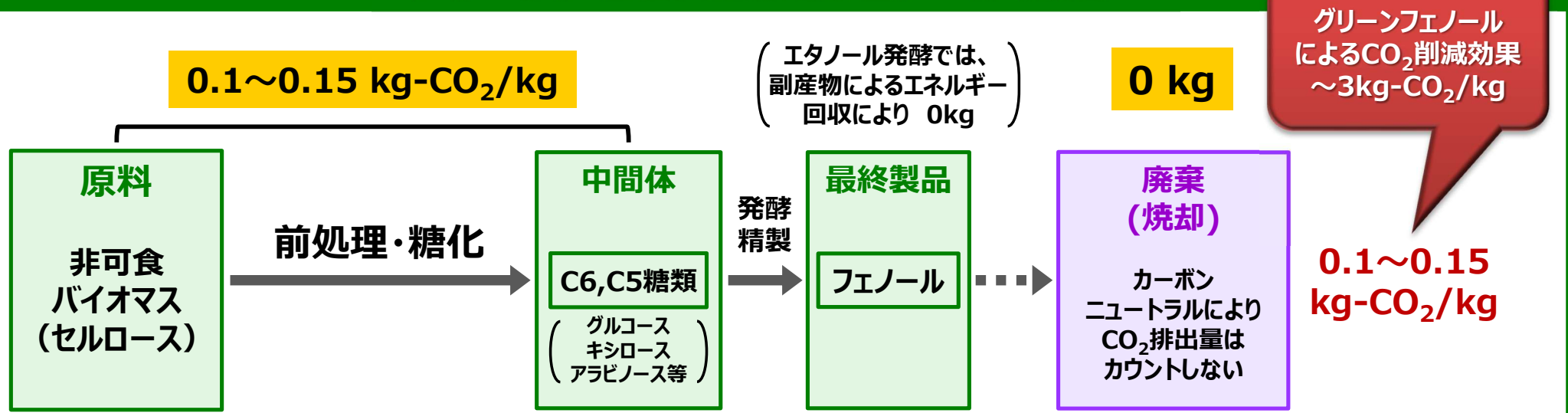


「温室効果ガスインベントリオフィス」資料を参考にRITE作成

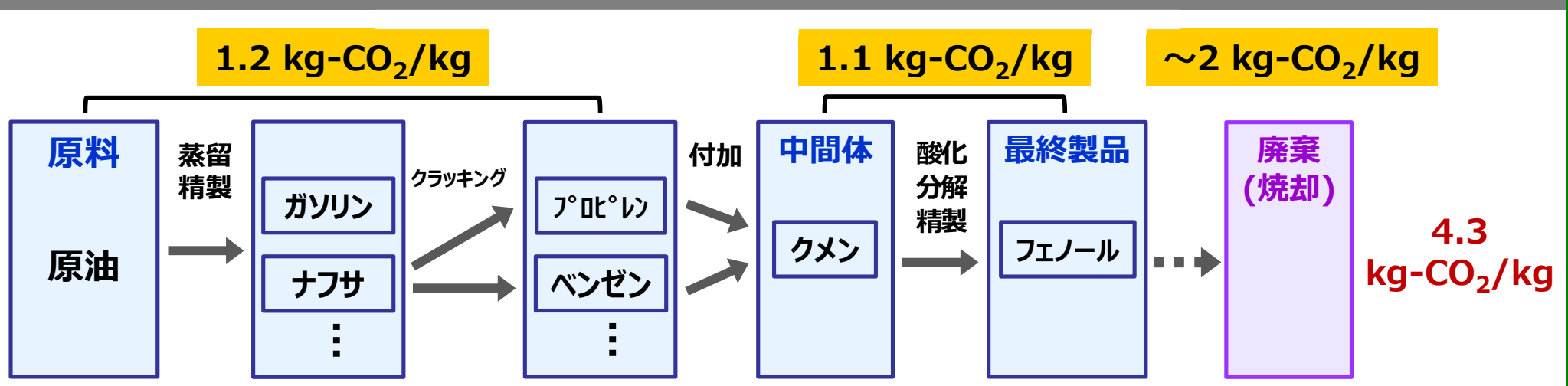


# グリーンプロセスと石油化学における フェノール製造時のCO<sub>2</sub>排出量比

## グリーンプロセスによるフェノール製造 1)

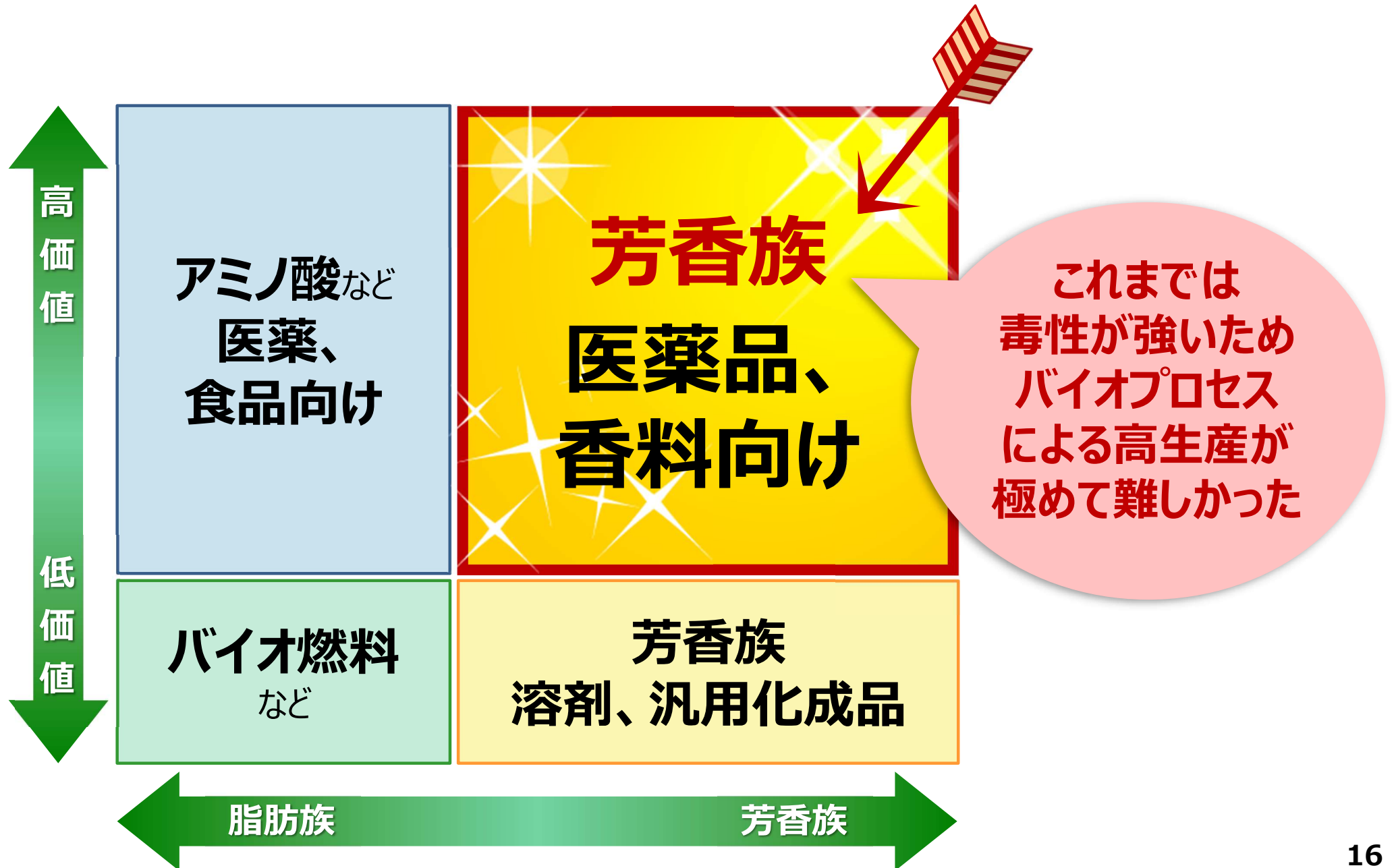


## 石油化学プロセスによるフェノール製造 2)

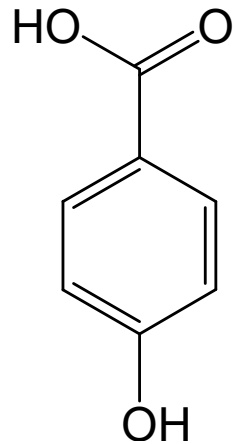


1) *Journal of Japan Society of Energy and Resources*, 30:9-14. 2009. AIST論文を参考に作成  
 2) 経産省 カーボンフットプリント制度試行事業CO<sub>2</sub>換算量共通原単位データベースver.4.01(国内データ)を参考に作成

# 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-HBA)



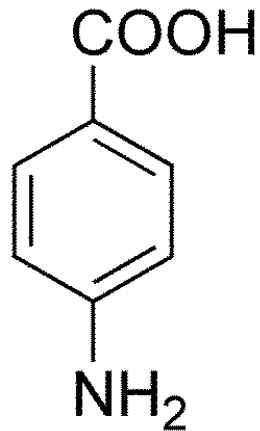
- 4-Hydroxybenzoic acid( 4-HBA)
- ユビキノン生産経路の中間体
- ベンゼン環、カルボキシル基、水酸基
- 対角の位置に置換基

## 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



# 4-アミノ安息香酸 (4-ABA)



- ・ 4-Aminobenzoic acid(4-ABA)
- ・ 葉酸(ビタミンB9)生産経路の中間体
- ・ ベンゼン環、カルボキシ基、アミノ基
- ・ 対角の位置に置換基

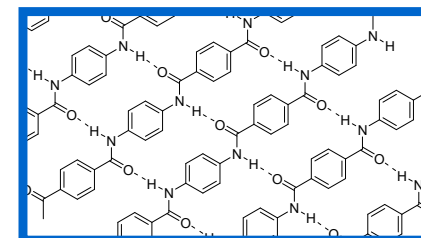
## 用途

- 高強度ポリマー原料
- 化粧品原料(UV吸収剤)
- 医薬品原料
- サプリメント
- 飼料添加剤
- 麻酔・鎮痛効果
- アゾ染料



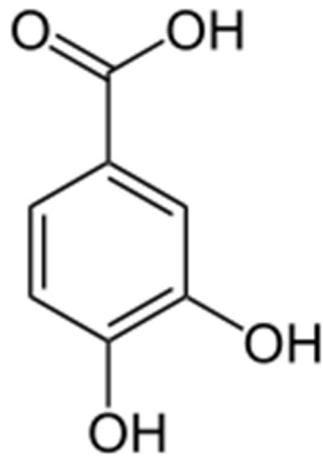
## DARPAの中長期的計画で 挑戦的なターゲットに指定

DuPont ; 高強度ポリマー  
Kevlar® アラミド合成繊維



軽量, 耐熱  
耐衝撃 等

# プロトカテク酸 (PCA)



- ・Protocatechuic acid(PCA)  
(3,4-ジヒドロキシ安息香酸)
- ・芳香族化合物異化代謝経路の中間体
- ・ベンゼン環、水酸基、カルボキシル基

## 用途

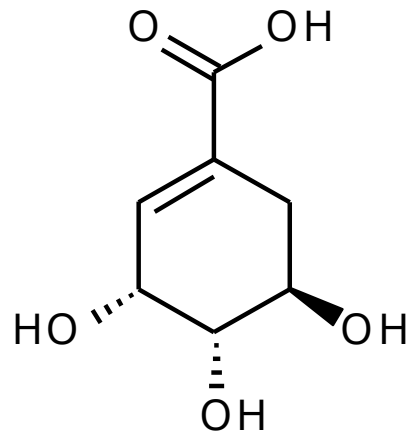
- 化粧品原料
- 各種医薬品原料
- 香料(バニリン)原料
- ポリマー原料
- 食品用抗酸化剤
- 染毛剤



- 農薬、抗菌薬
- カテコール製造原料

- 防錆剤
- 飼料添加物

# シキミ酸



3,4,5-trihydroxy  
-1-cyclohexene  
-1-carboxylic acid

- ・環状ヒドロキシカルボン酸
- ・隣接する3個のキラル炭素原子を分子内に保有
- ・芳香族化合物  
生合成前駆体

## ■ 医薬品

- ・抗インフルエンザ薬(タミフル)原料
- ・GABA様作用(鎮静、抗不安)
- ・血圧降下、胆石治療
- ・NF-kB阻害



## ■ 化粧品

- ・美白剤
- ・しわ防止剤
- ・育毛剤
- ・抗酸化活性



## ■ 健康食品

- ・脂肪吸収抑制
- ・免疫応答調節

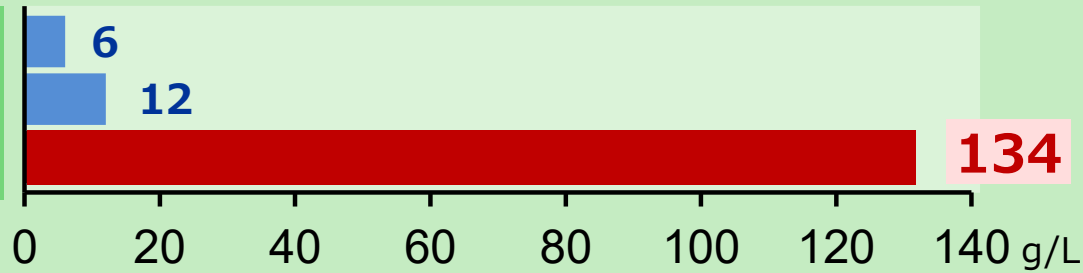
## ■ その他

- ・易分解性農薬
- ・園芸種の品種改良試薬
- ・酸化防止剤
- ・抗生物質
- ・生化学試薬



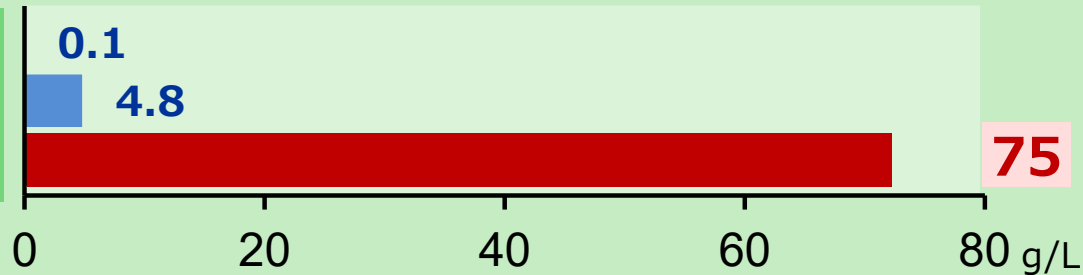
# RITEの競争力(競合研究との生産濃度比較)

4-ヒドロキシ  
安息香酸



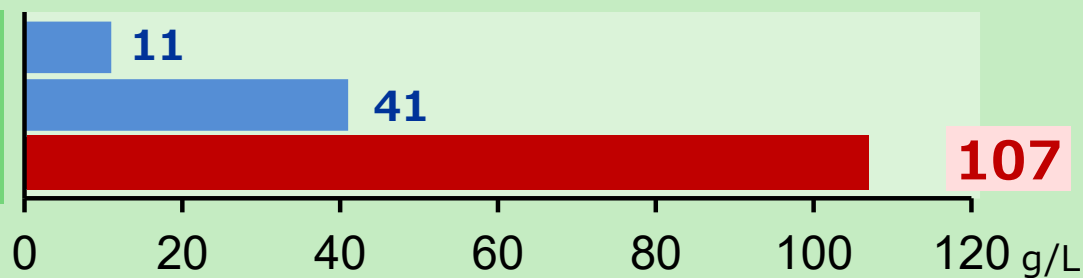
デルフト大  
ミシガン州立大  
RITE 

パラアミノ  
安息香酸



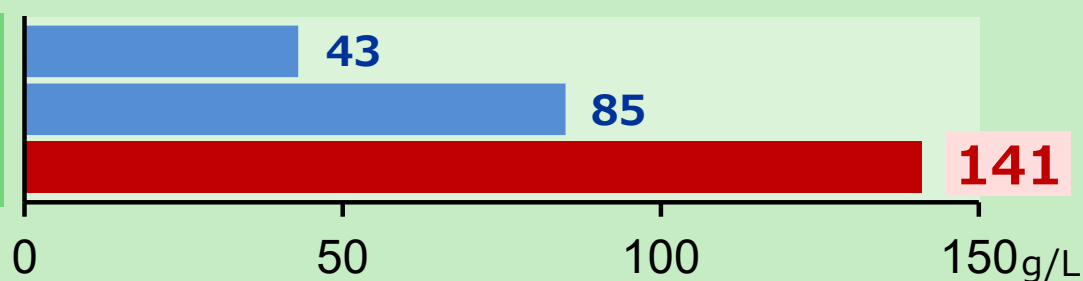
神戸大  
大阪産業技術研究所  
RITE 

プロトカテク酸



味の素  
ミシガン州立大  
RITE 

シキミ酸



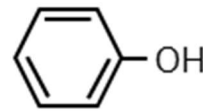
メキシコ国立自治大  
ミシガン州立大  
RITE 

# パイロットプラントで生産試験

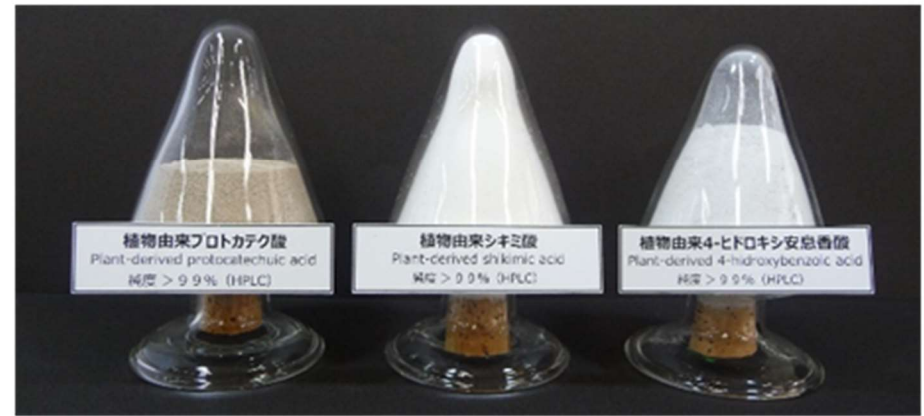
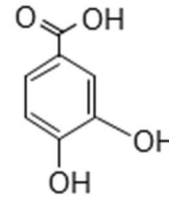


## 開発品ラインナップ

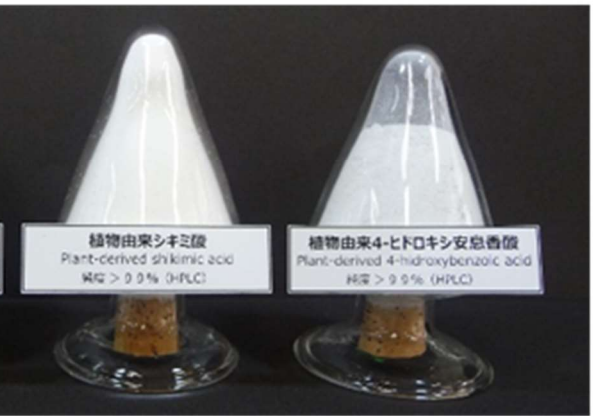
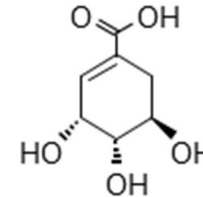
フェノール



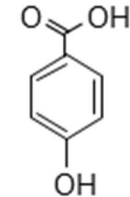
プロトカテキ酸



シキミ酸



4-HBA



**NEDO**  
**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

発見(discover)



解析(analysis)



設計(design)



組換え(build)



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(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

# スマートセル設計システムを用いたDBTLサイクル

## 従来の代謝設計



ここを止めて  
こっちをつなげて..  
いや、やっぱりこっち？  
それとも全部試す？

- ・ トライアル・アンド・エラー
- ・ 多大な労力
- ・ 検索範囲に限界
- ・ 個人の経験に依存

## スマートセル設計システム



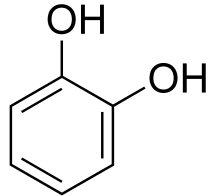

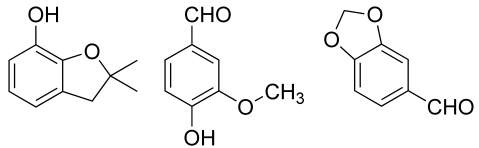
ランク付き改変提案

1. 遺伝子Aの破壊
2. 遺伝子Bの導入
3. A133G 配列変換

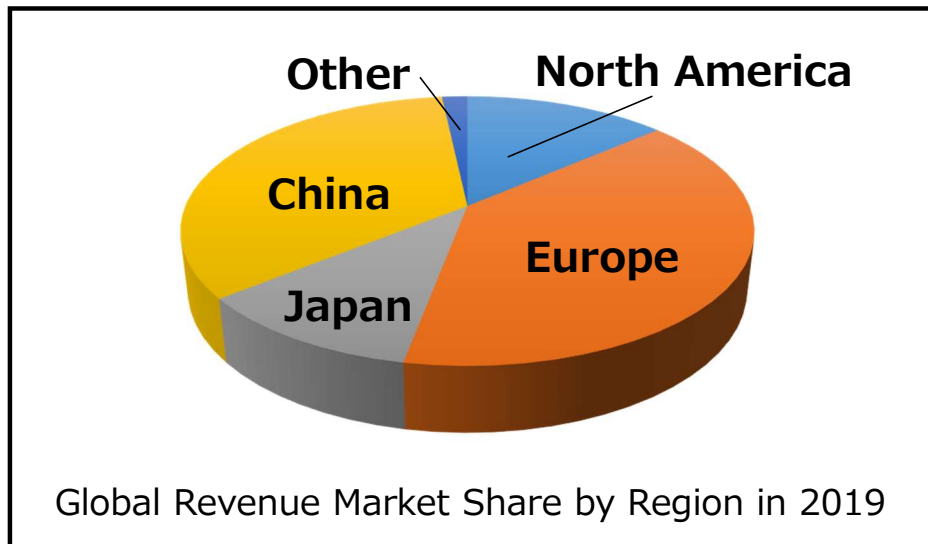
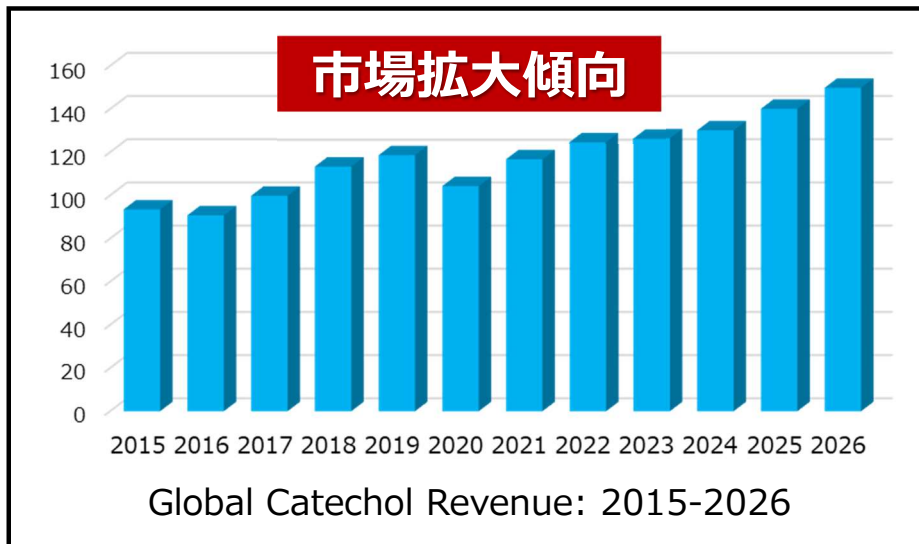
⋮

- ・ 最小限の試行
- ・ 大規模DBから広範囲に検索
- ・ 計算機を用いた、  
代謝経路の最適化
- ・ 人の発想を超えた改変提案

# 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>

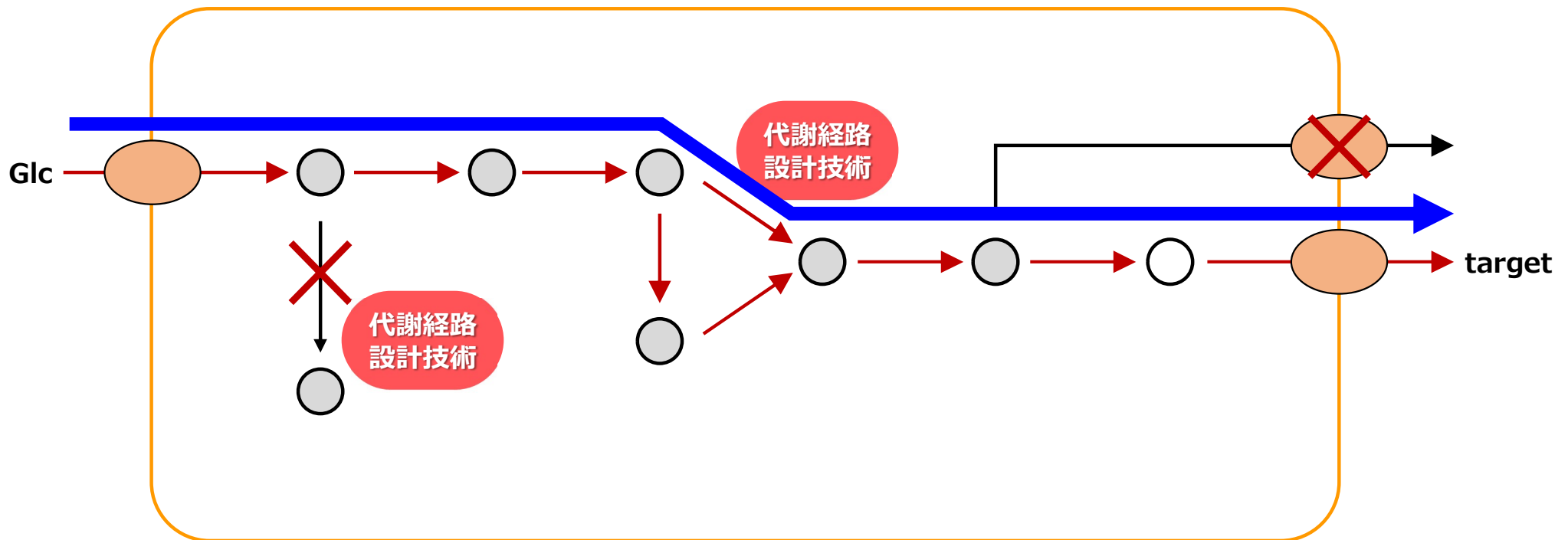




# 最短代謝経路探索による生産濃度向上

## スマートセル設計システム: 代謝設計技術

Flux Balance Analysis, FBAにもとづく  
代謝シミュレーションを行い、生産経路を選定

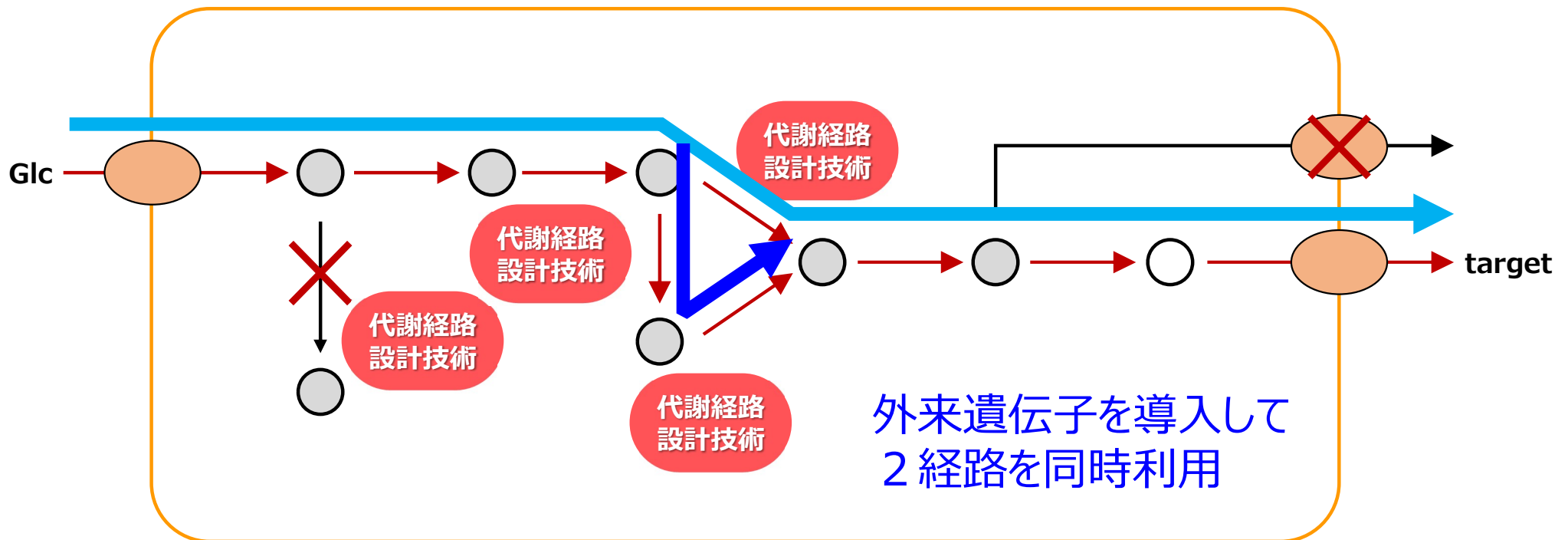


生産濃度比向上: 0 → 1.0倍

# 最適代謝経路探索による生産濃度向上

## スマートセル設計システム: 代謝設計技術

Hybrid Metabolic Pathway design tool, HyMeP  
にもとづく代謝シミュレーションを行い、生産経路を追加



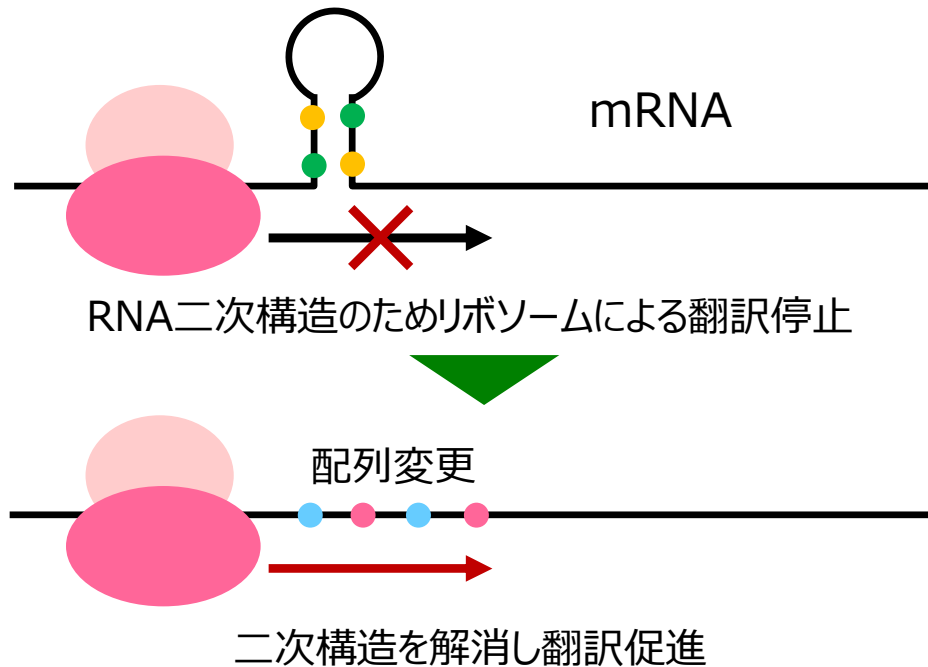
生産濃度比向上: 1.0 → 2.0倍

# タンパク質発現量調節による生産濃度向上

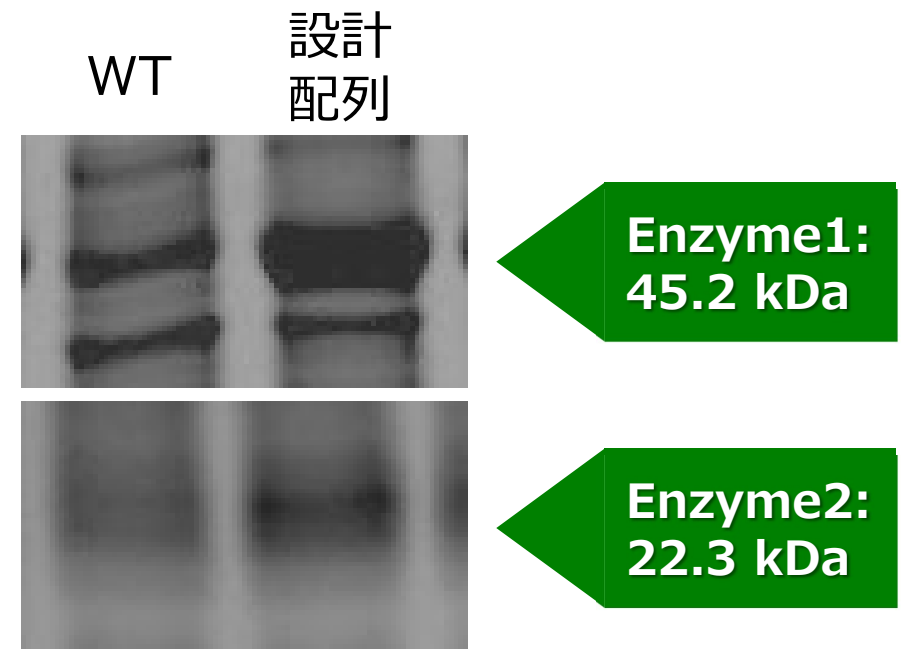
## スマートセル設計システム: 導入遺伝子配列設計技術

- 全ゲノムから相対的に発現量が低い遺伝子を予測
- mRNAの5'側の二次構造を崩すことで翻訳を促進

### 配列設計(産総研)



### SDS-PAGEによる発現量比較(RITE)

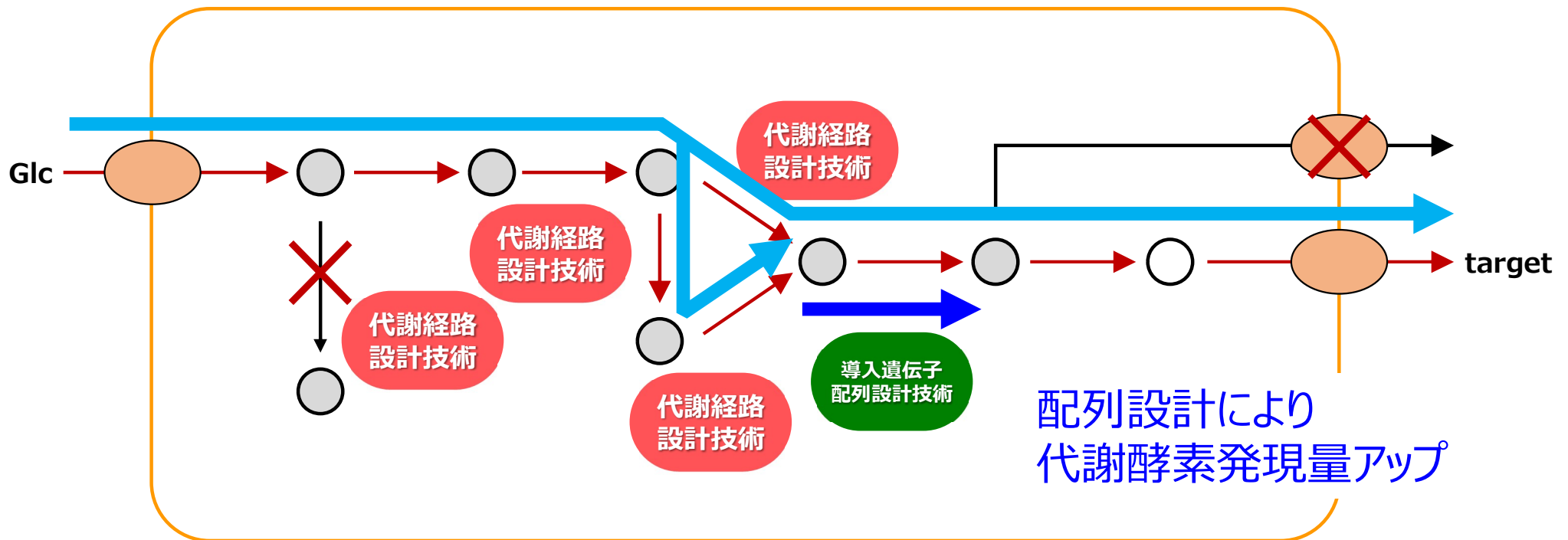


**配列設計によりタンパク質発現量が大幅に増加  
→ 生産濃度も向上**

# タンパク質発現量調節による生産濃度向上

## スマートセル設計システム: 導入遺伝子配列設計技術

コドン使用頻度、mRNAの二次構造形成能にもとづく自由エネルギーシミュレーションを行い、高発現配列を設計

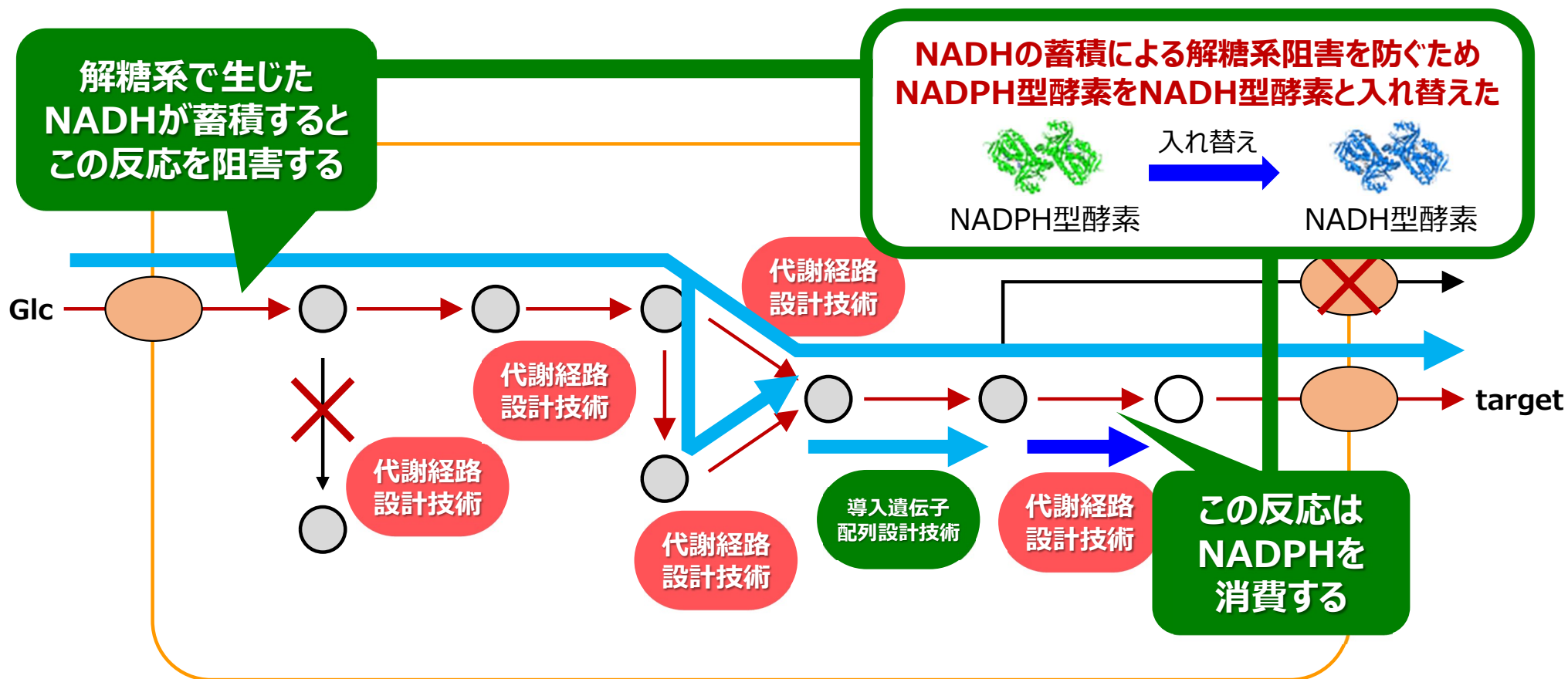


生産濃度比向上: 2.0 → 2.4倍

# 酸化還元バランス調整による生産濃度向上

## スマートセル設計システム: 代謝設計技術

Hybrid Metabolic Pathway design tool, HyMeP  
にもとづく代謝シミュレーションを行い、酸化還元バランスを調整



生産濃度比向上: 2.4 → 2.5倍

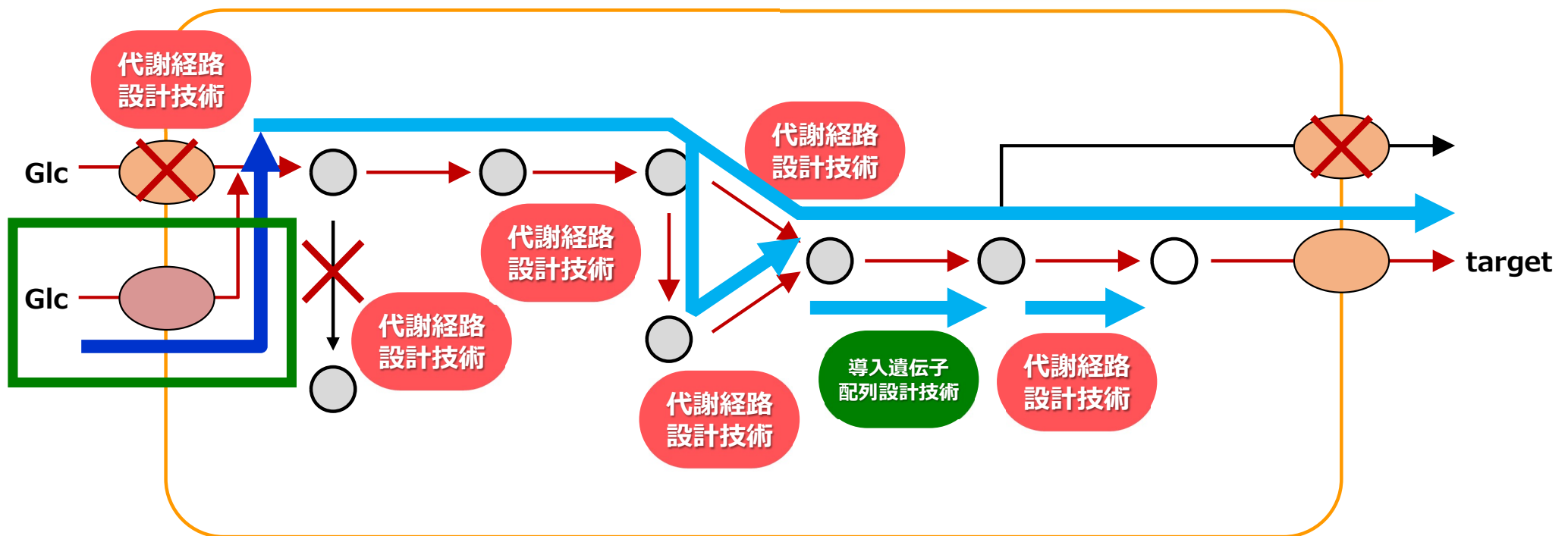
# 前駆体供給強化の試み

## スマートセル設計システム: 代謝設計技術

Hybrid Metabolic Pathway design tool, HyMeP  
にもとづく代謝シミュレーションを行い、前駆体の消費を抑制

グルコース取り込み系を変更

前駆体を消費する系を破壊  
前駆体を消費しない系を追加



生産濃度比低下: 2.5 → 1.6倍

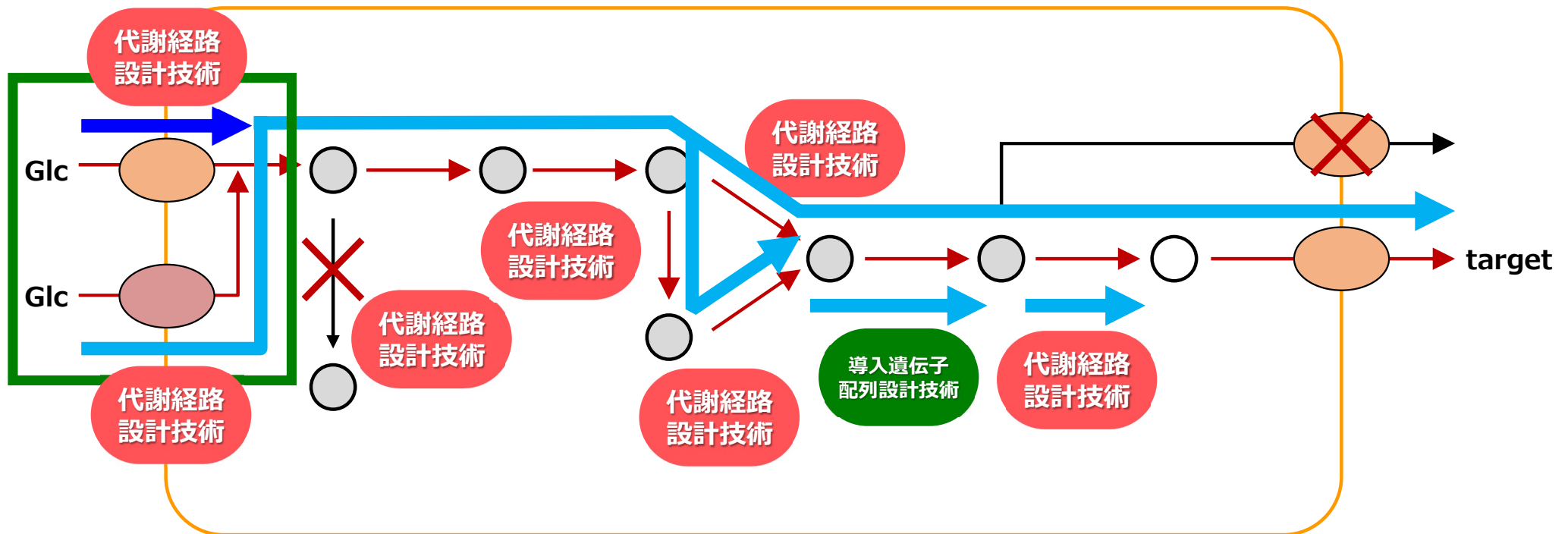


# 糖取込み強化による生産濃度向上

## スマートセル設計システム: 代謝設計技術

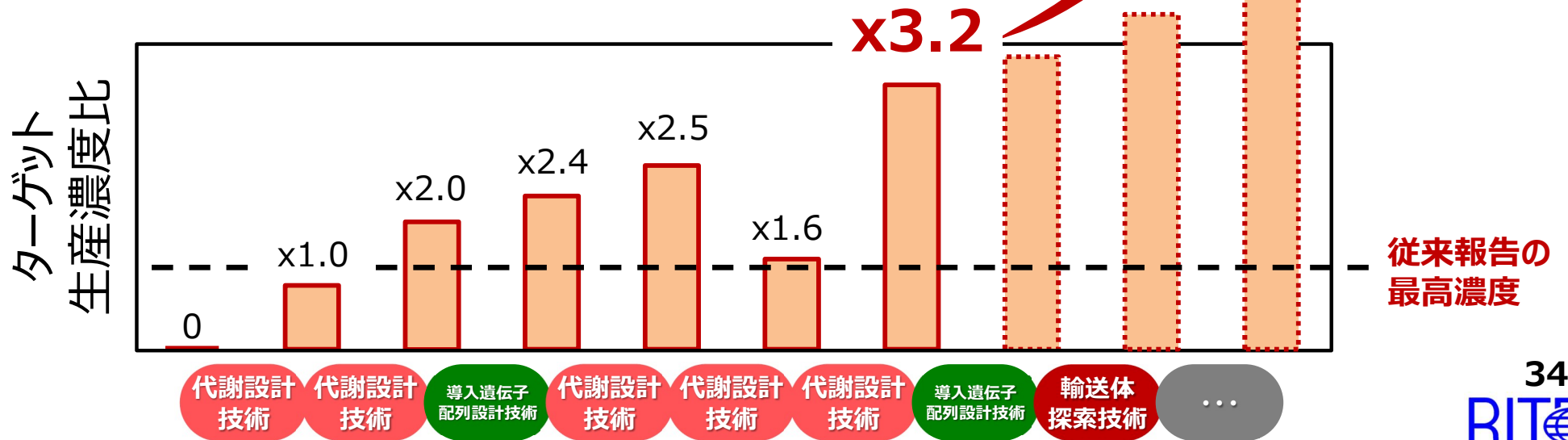
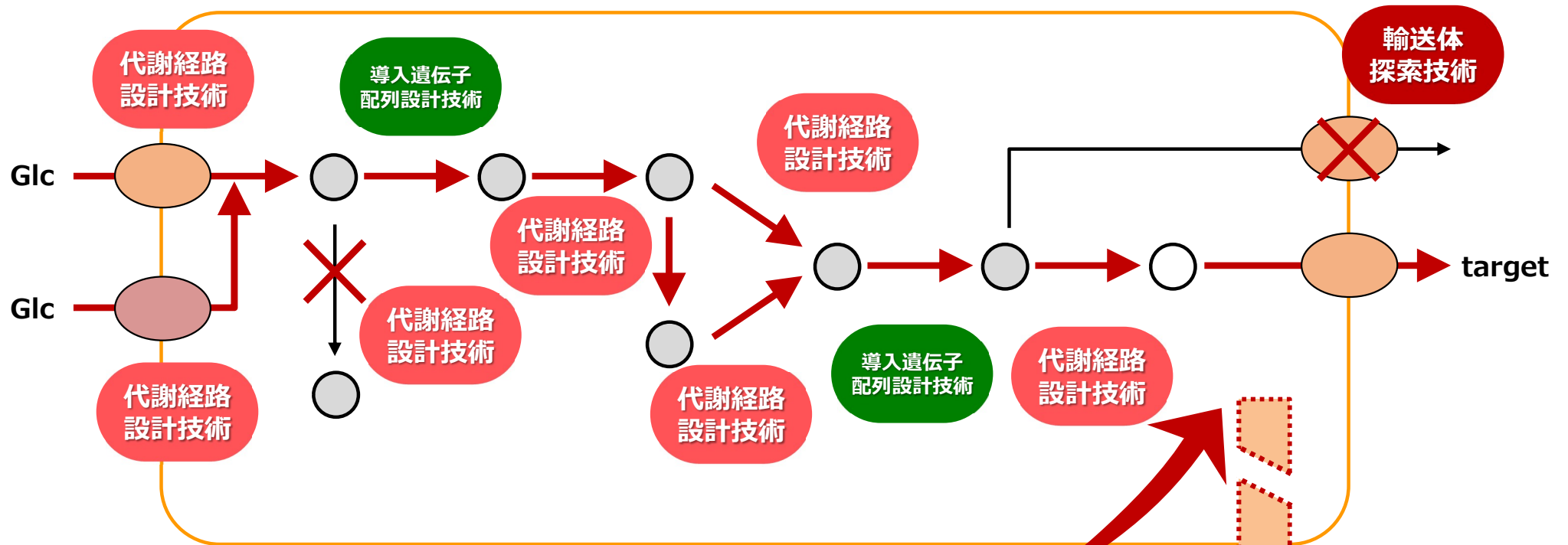
Hybrid Metabolic Pathway design tool, HyMeP  
にもとづく代謝シミュレーションを行い、糖取込み経路の強化

グルコース取り込み系を変更 2系統の取り込みを同時に利用



生産濃度比向上: 1.6 → 3.2倍

# スマートセル設計システムによる生産濃度向上



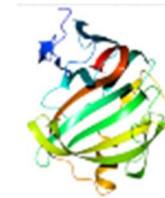
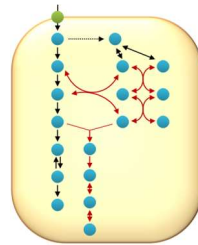
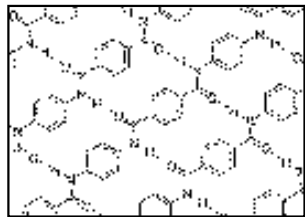
**SIP**

**革新的バイオ素材・高機能品等  
の機能設計／生産技術開発**

# バイオモノマーの効率生産

データ駆動型酵素開発と  
バイオモノマーの効率生産の実現

高機能酵素を効率的に創製することで、  
微生物によるバイオモノマーの生産を  
飛躍的に効率化し、開発期間を大幅に短縮



代謝経路デザイン  
プロトタイプ酵素の探索

酵素の高機能化

バイオポリマー  
設計グループ

バイオモノマー

- ・グラフ構造理論等の導入による代謝経路探索技術の最適化
- ・バイオ合成可能な新規モノマーと、代謝経路を提示

バイオモノマー合成酵素

機械学習によるプロトタイプ酵素の探索アルゴリズムの開発

高機能化酵素

計算化学・機械学習・進化工学的操作による酵素の機能改変

バイオモノマー  
選定

新規バイオモノマー  
リスト(DB化)

代謝デザイン  
支援

Wet支援

機能評価

Wet支援

酵素機能・生産性評価基盤

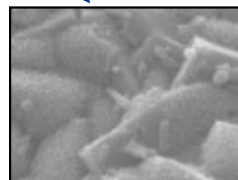
- ・酵素改変体の酵素機能検証と有効変異点の同定
- ・バイオモノマー生産株の構築

Wet支援

生産菌株の拡張

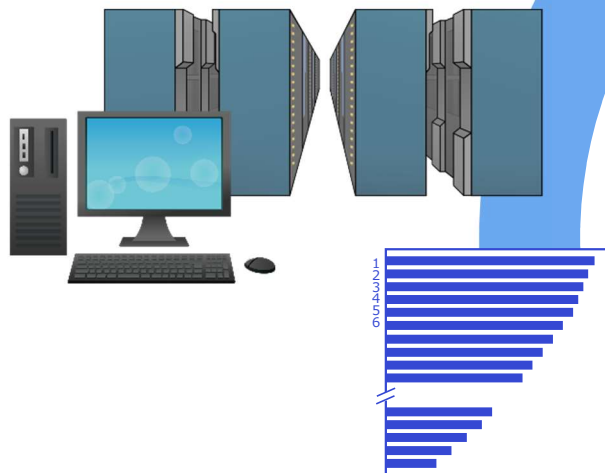
CO<sub>2</sub>固定微生物

原料の拡張(糖からCO<sub>2</sub>へ)に向けた電気合成微生物の単離・ライブラリー化、およびバイオ生産能力の検証

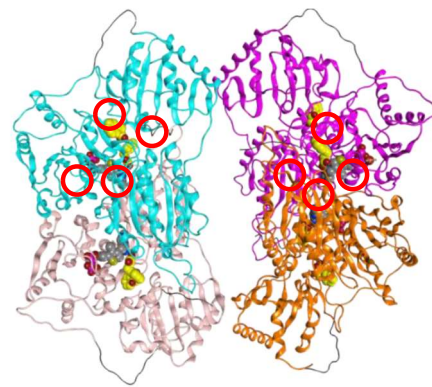


# 酵素改変技術開発

ランキング上位について  
新たな変異体ライブラリ  
構築・評価へ



評価結果を機械学習  
(ベイズ推定)  
有効変異のランキング

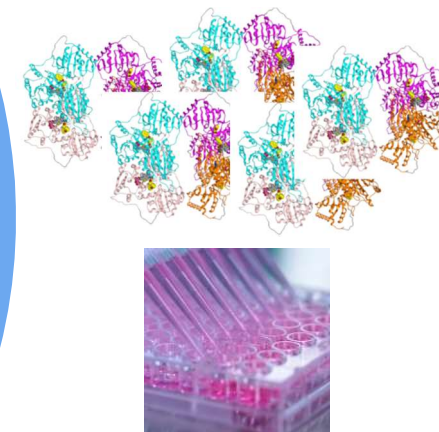


酵素の立体構造を元にした  
分子動力学シミュレーションによる  
変異導入点の推定

変異点N個を評価するには  
20のN乗個の変異体の構築・評価が必要  
例) 5箇所 =  $20^5 = 320$ 万変異体

機械学習を組み合わせることにより  
評価変異体数の削減

短期間で効率的な  
酵素の改良を実現



100~1000の変異型酵素  
ライブラリー作製・評価

酵素活性向上に成功

**NEDO**

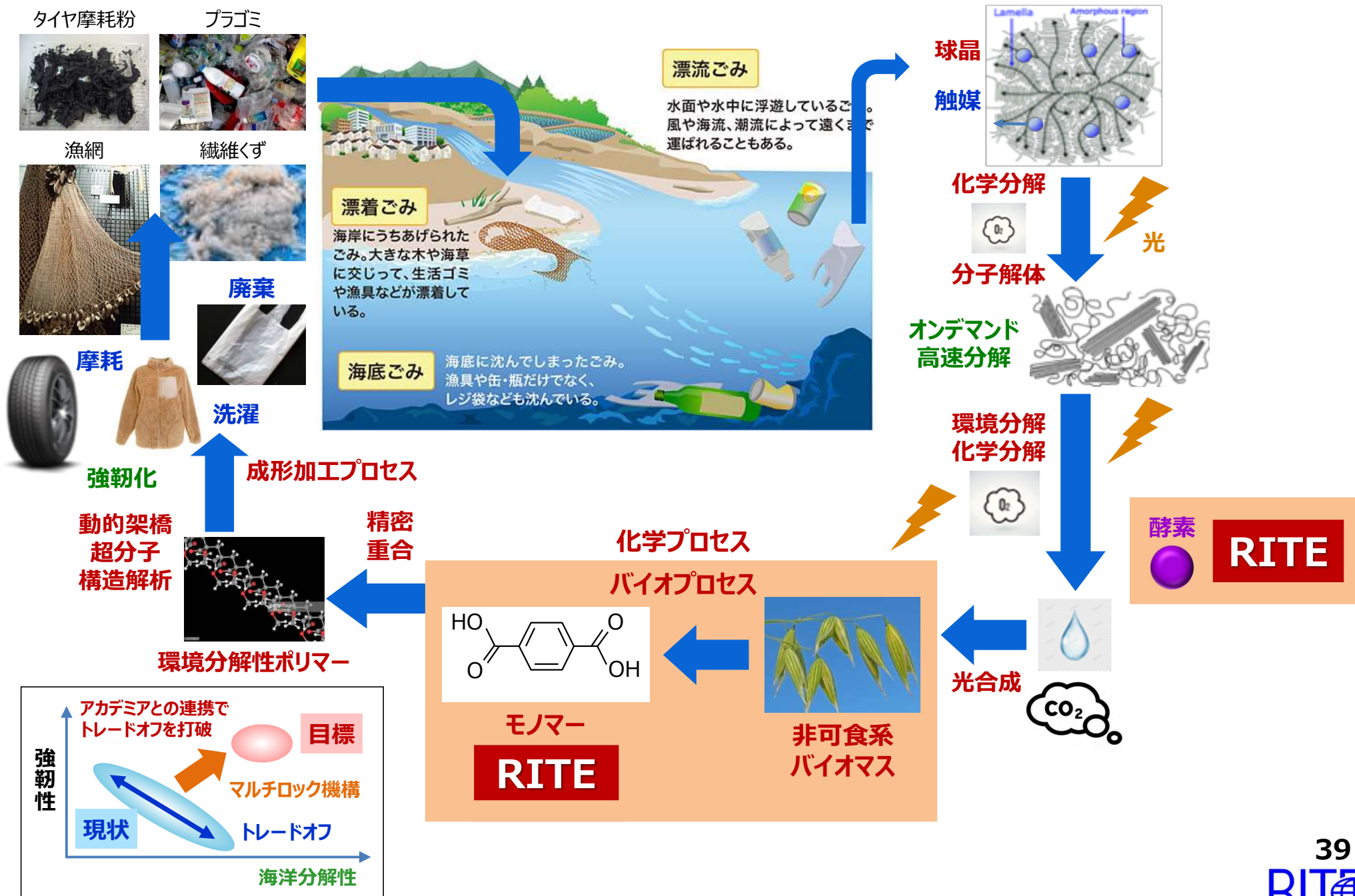
# ムーンショットプロジェクト

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





# 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

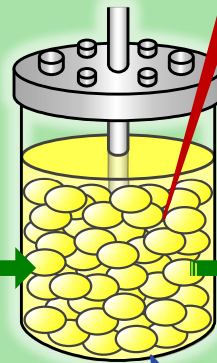
増殖非依存型バイオプロセス (RITE Bioprocess®)

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)

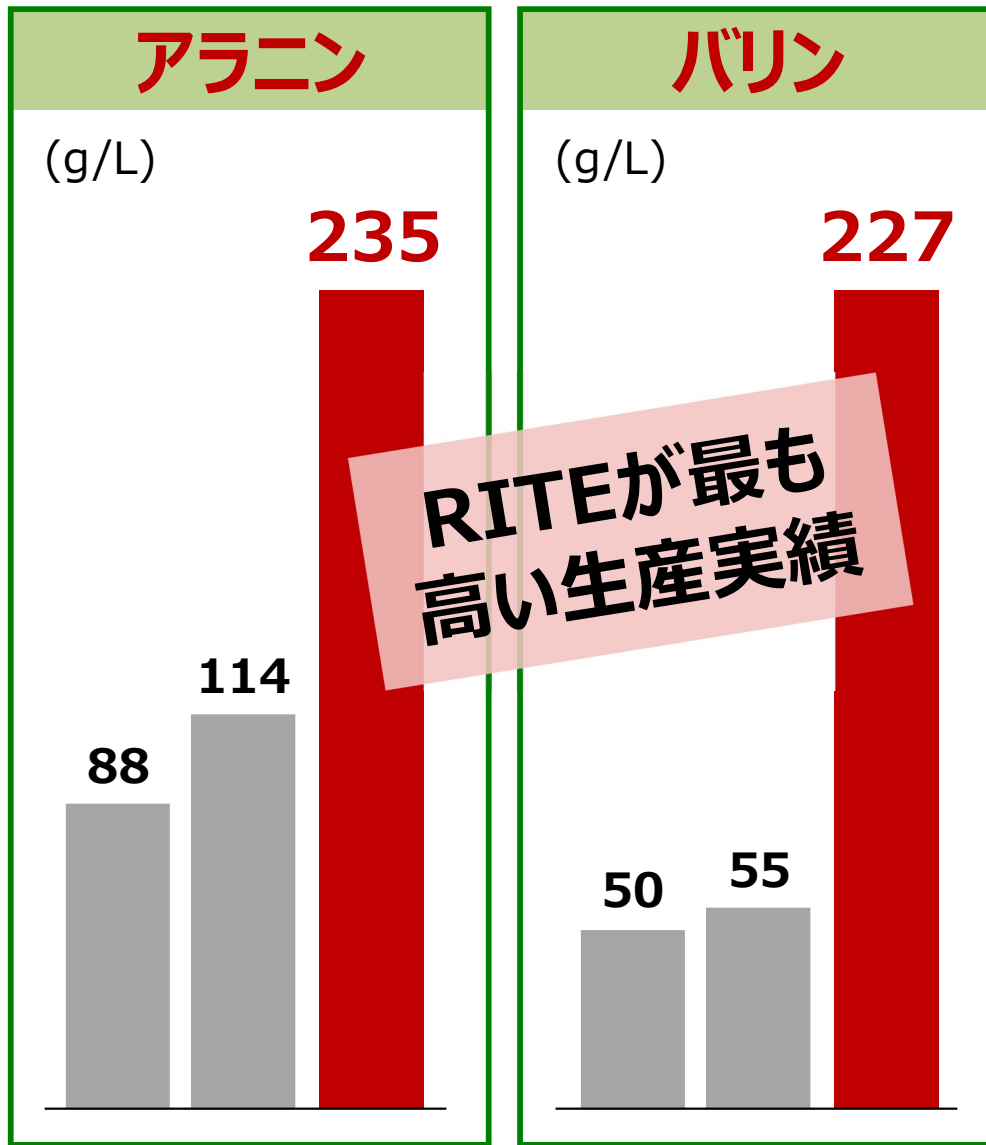


増殖阻害物質

- ・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

# グリーン化学品の微生物生産



飼料添加剤

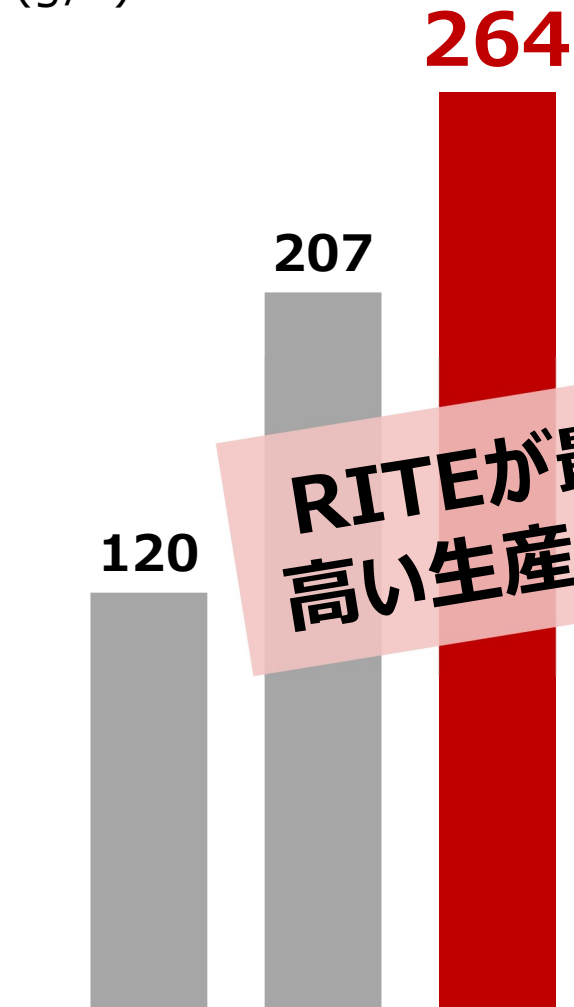


海外の複数の国で生産プロジェクトが進行中

# グリーン化学品の微生物生産

## D-乳酸

(g/L)



RITEが最も  
高い生産実績

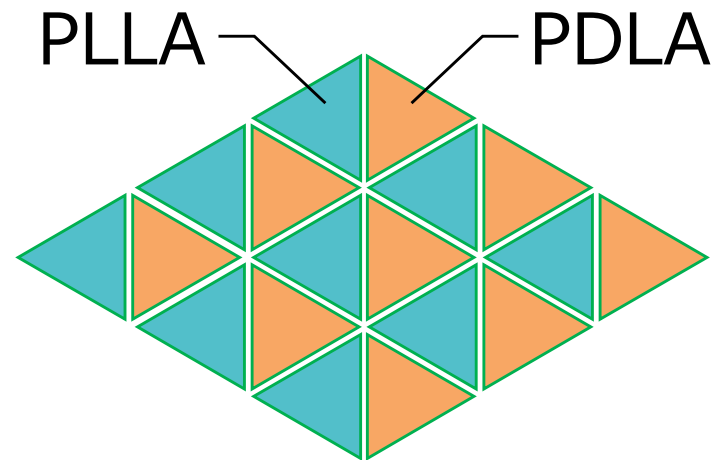


ポリ-L-乳酸

+



ポリ-D-乳酸



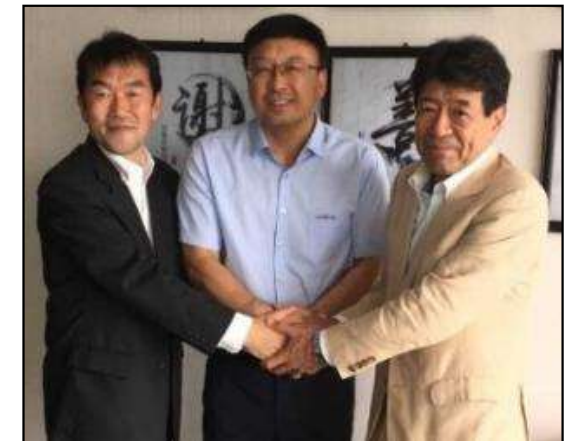
ステレオコンプレックスポリ乳酸  
異なる物性

# 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	<b>【アミノ酸】</b> 工業用、食品用アミノ酸 (アラニン、バリン) 海外での商用生産を実施中 <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 <b>【化粧品原料】</b> 化粧品用エタノールの国内販売実施



Green Earth 研究所



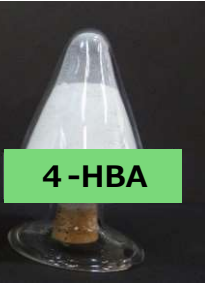


海外メーカーとのコラボレーション

右 = RITE本庄専務理事  
左 = GEI伊原代表取締役

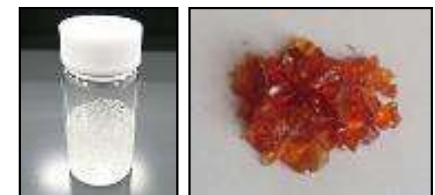
# グリーンケミカルズ(株) (GCC)

(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: center;"> <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)c1ccc(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

# **Thank you for your attention**

**Contact Information: [mmg-lab@rite.or.jp](mailto:mmg-lab@rite.or.jp)  
[www.rite.or.jp](http://www.rite.or.jp)**