

革新的環境技術シンポジウム

2010年2月3日

バイオリファイナリーの実用化に向けて

- バイオマス資源からのエネルギー・化学品生産 -

(財)地球環境産業技術研究機構 (RITE)

バイオ研究グループ

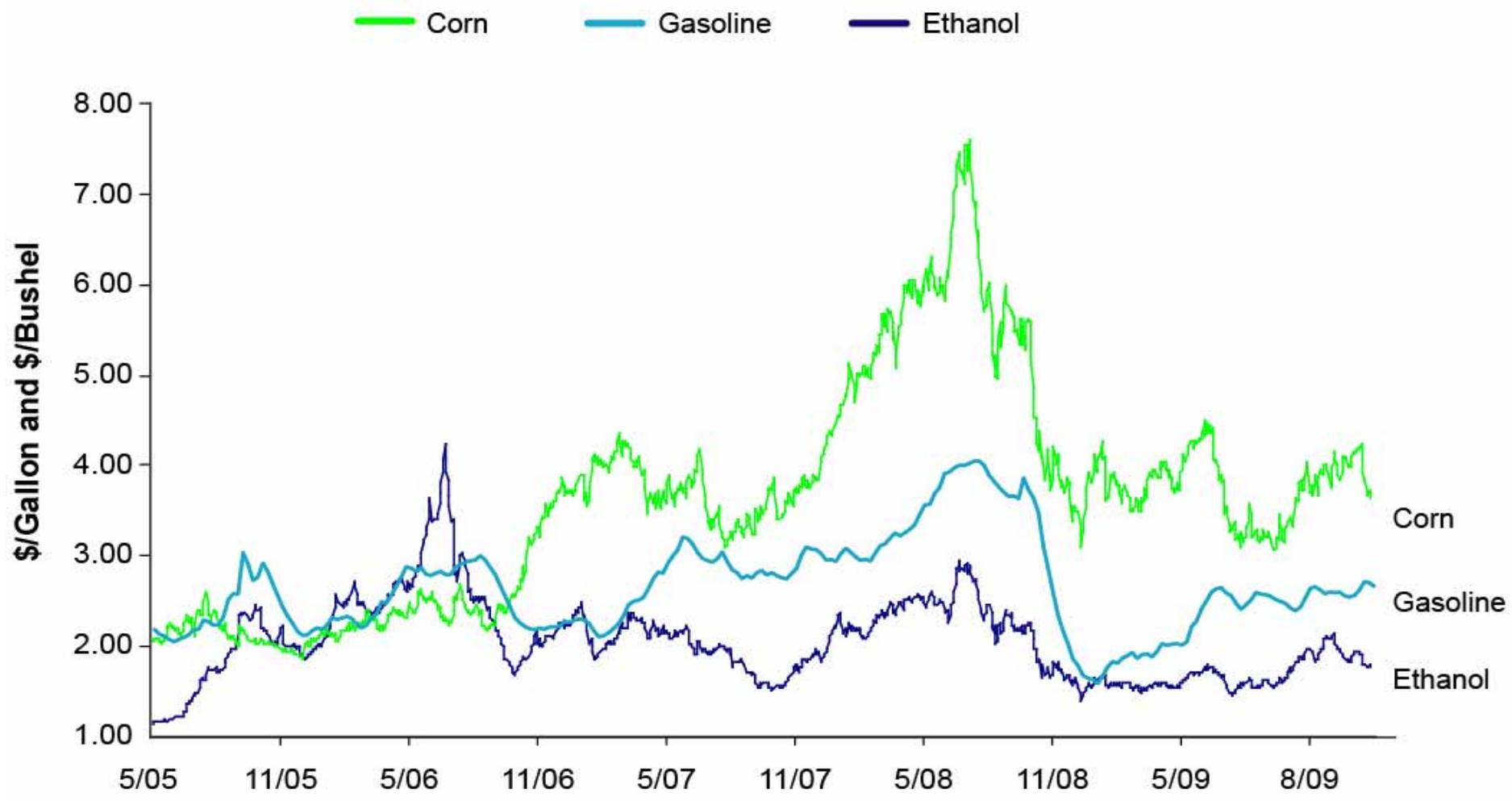
湯川 英明



セルロースエタノール実証計画 in 米国

企業	生産開始 時期		醗酵方法	生産規模 (万kL/y)	酵素供給元	微生物
POET (Broin)	2011	2011	C5C6同時	9.5	Novozymes	<i>Z. mobilis</i>
Vercipia (Verenium/BP)	2010	2012	2段発酵	13.6	自社酵素	<i>E.coli</i> KO11 <i>K. oxytoca</i> BW34
Verenium	2009	2009	2段発酵	0.6	自社酵素	<i>E.coli</i> KO11 <i>K. oxytoca</i> BW34
Mascoma	2009	2012	CBP	7.6	Genencor, 自社酵素	Yeast Thermophilic anaerobe
Bluefire Ethanol Inc.	2009	2012	C5C6同時	7.2	酸加水分解	Yeast
Abengoa	2011	2012	2段発酵	4.4	Novozymes, Genencor, Dyadic, DSM	
DuPont Danisco Cellulosic Ethanol	2012	2010	C5C6同時	0.1	Genencor	<i>Z. mobilis</i>
American Energy Enterprises	2010	mid 2010	C5C6同時	5.7	酸加水分解	Yeast
Pacific ethanol	2009	4Q, 2010	2段発酵	1.0	Novozymes	Yeast Thermophilic anaerobe
KL Energy / Western Biomass Energy	2007	2008	C6のみ利用	0.6	Novozymes	Yeast

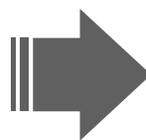
バイオエタノール・ガソリン・トウモロコシ価格推移



食料との競合

食資源価格の高騰
(趨勢)

食料資源
(トウモロコシ等)



非食料資源
(セルロース類)



企業のCSR
(生き残り)

技術革新
(システムバイオロジー)

バイオリファイナー

非可食セルロース



<RITEバイオプロセス>

(増殖非依存型バイオプロセス)

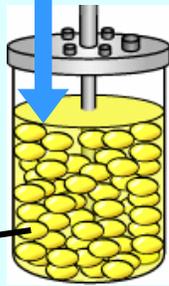
反応槽に微生物を高密度充填し
反応する。

混合糖完全同時利用可

発酵阻害物質耐性

高生産性

菌体触媒
(非増殖)



C2
エタノール

C3
プロパノール

C4
ブタノール等

芳香族類
カルボン酸
アミン等

グリーン化学適合反応技術

自動車部材、包装材
電気製品部材、炭素繊維
各種樹脂 等



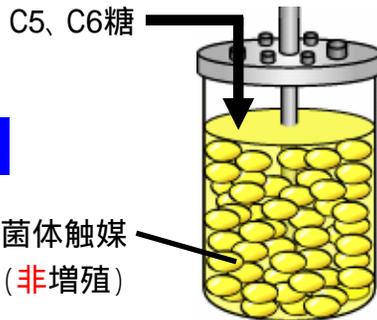
バイオ燃料(エタノール、ブタノール他)

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する。

JP-Patent 3869788
INDIA 209524
USA 7368268 B2

混合糖完全同時利用可



高生産性

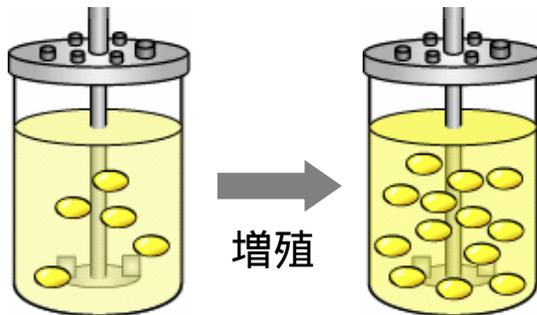
発酵阻害物質耐性

生産物
バイオ燃料
バイオ化学品

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。
システムが簡便である。

既存バイオプロセス(醗酵法)

微生物が増殖しながら物質を生成する。



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となる。

生産(反応)時間は微生物の増殖に
依存する。

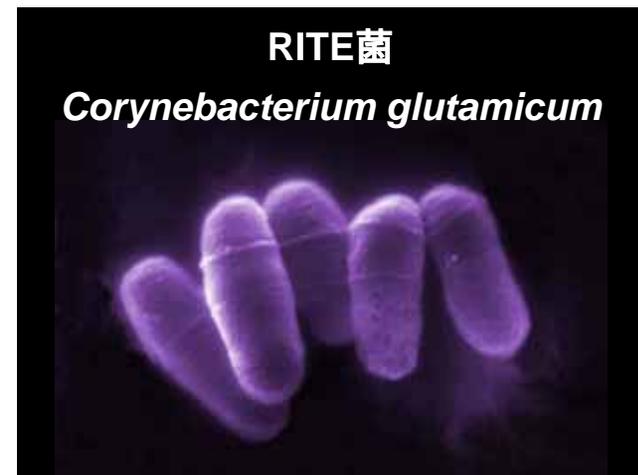
増殖非依存型バイオプロセスに至る研究経緯

■ Serendipity: コリネ型細菌の隠れた性質の発見

コリネ型細菌: 工業微生物として各国で広く使用
好気性細菌として知られていた。

嫌気条件下: 増殖停止
嫌気代謝系機能発現

好気代謝系 → 嫌気代謝系
代謝系のShift



Serendipity: 掘出し物を偶然見つける才能
予期することなく大きな発見をする能力

Corynebacterium glutamicum

- 日本企業の研究陣によりアミノ酸(グルタミン酸)の生産菌として“発見”
 - 現在、各種アミノ酸、核酸、ビタミン等の生産に用いられている。
 - 世界各国の「醗酵工業」の基盤となっている。
 - EU: 大型研究プロジェクトとして注力
 - 工業的重要性を認識
 - 応用を見据えた幅広い基礎研究を強力に推進
- ➡ RITEの学術上の強力なライバル

参考)最近の学術論文数

Name	論文数(2000年~)	Name	論文数(2000年~)
Yukawa H	59	Kramer R	64
Sahm H	46	Eikmanns B	40
Kalinowski J	64		

Corynebacterium glutamicum

■ 好気条件： 活発な増殖

■ 嫌気条件： 増殖停止

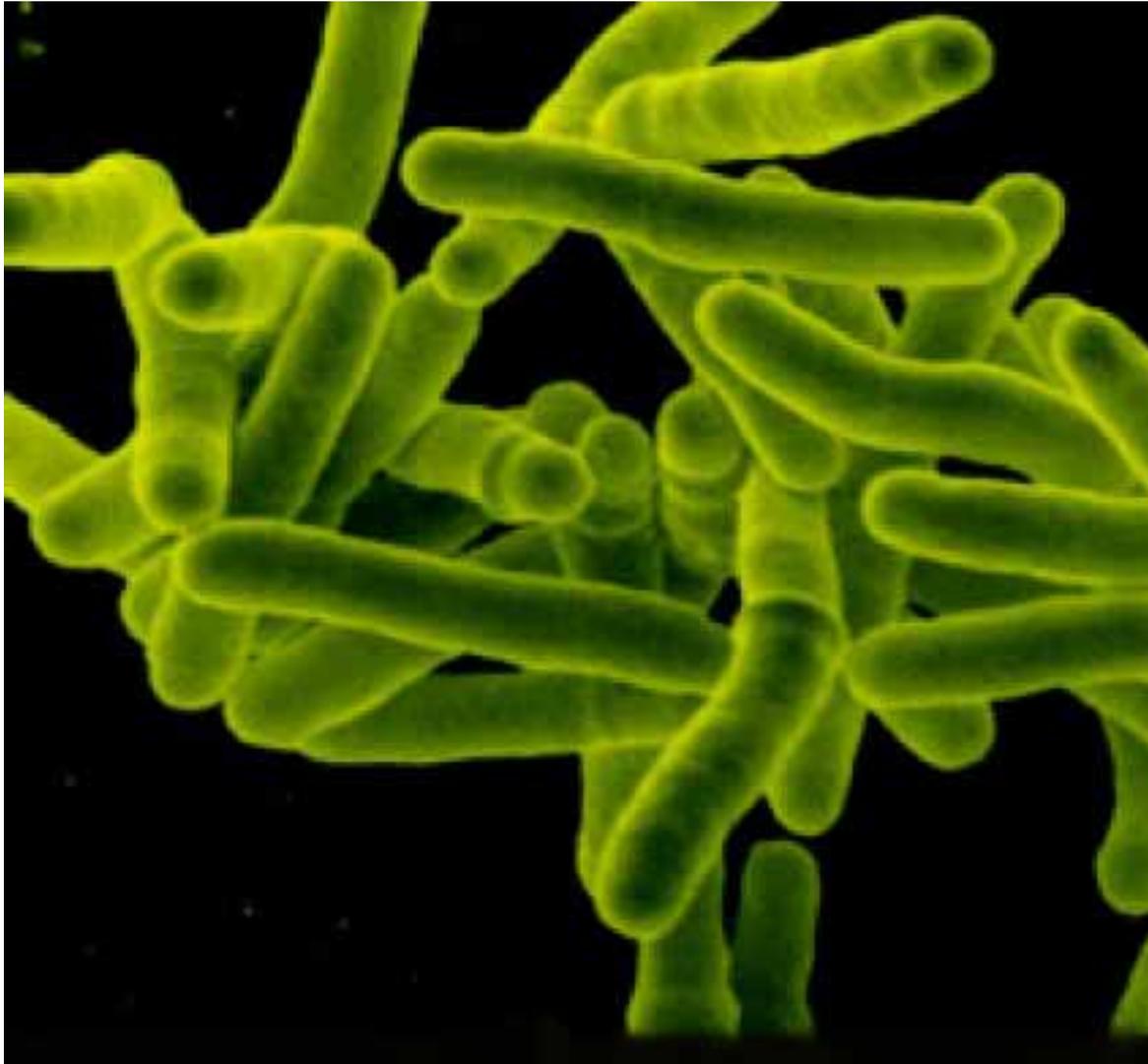
代謝系； 好気代謝 嫌気代謝系
代謝系のShift

*Corynebacterium*の類縁微生物種

同様の性質を有する

➡ 詳細検討、論文準備中

結核菌



増殖非依存型バイオプロセスに関する世界の研究動向

微生物の増殖と生産Phaseの分離を図る、すなわち増殖非依存型バイオプロセスに類似する研究が始まっている。(Trends Biotechnol. (2008) 26:100-108)

■ EUの大型研究プロジェクト

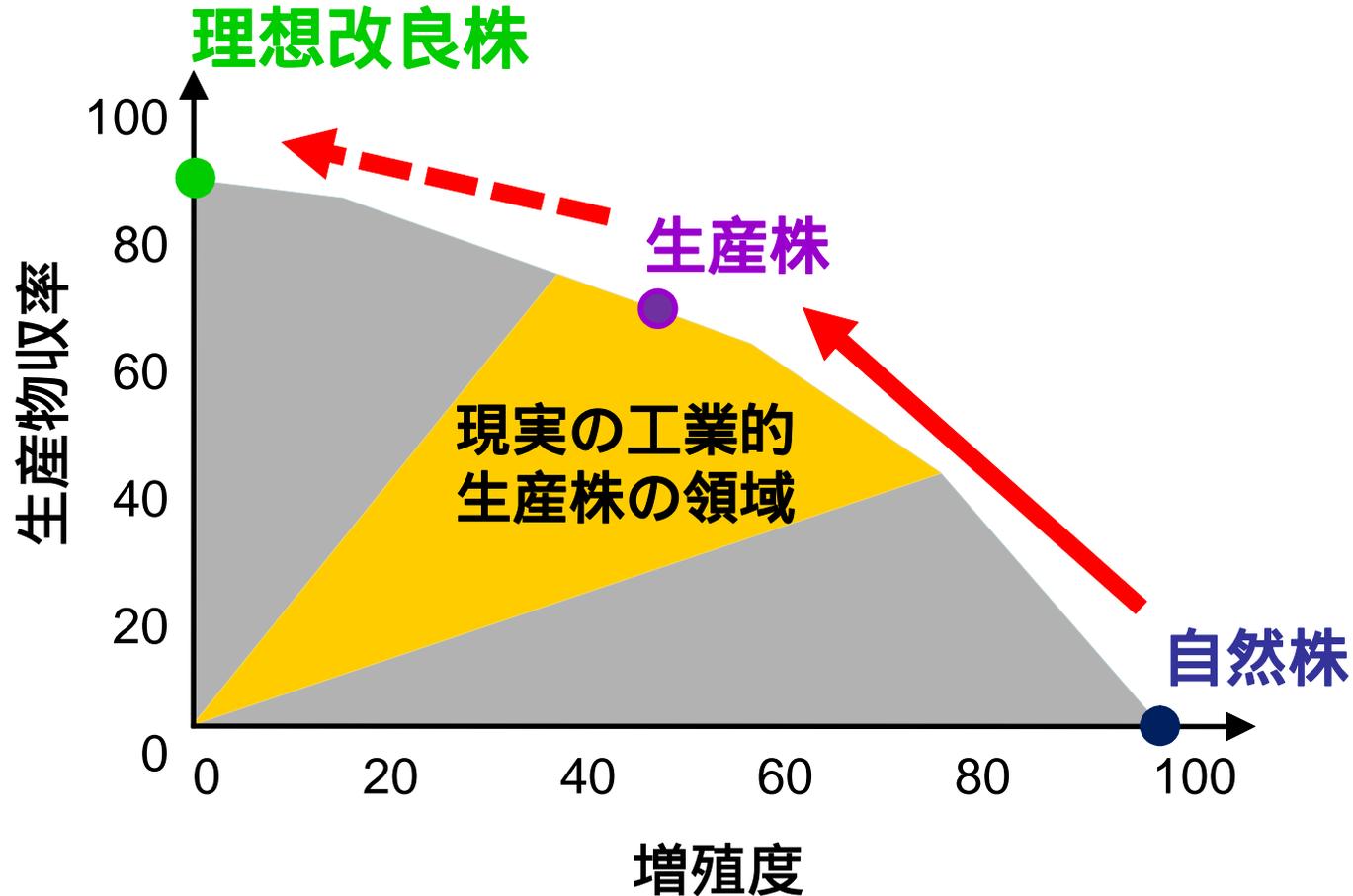
コリネ型細菌の工業的重要性を認識

さらに、増殖抑制条件下での物質生産研究を開始

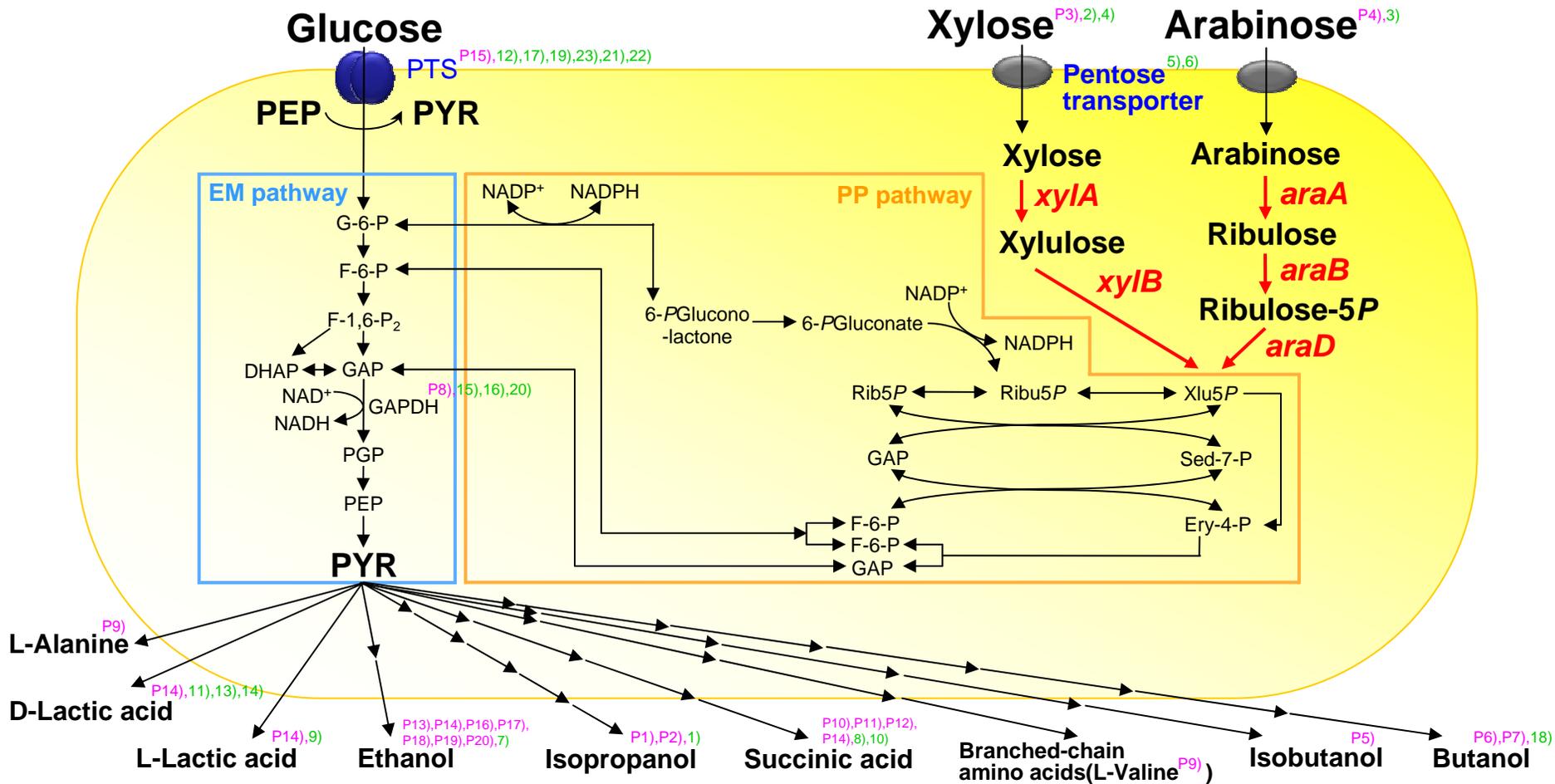
(Appl. Environ. Microbiol. (2007) 73:2079-2084)

2009年8月末: “RITE知見”の追試論文公表

増殖と生産物収率の関係



増殖非依存型バイオプロセス developed by RITE RITE



Patent application / registration by RITE

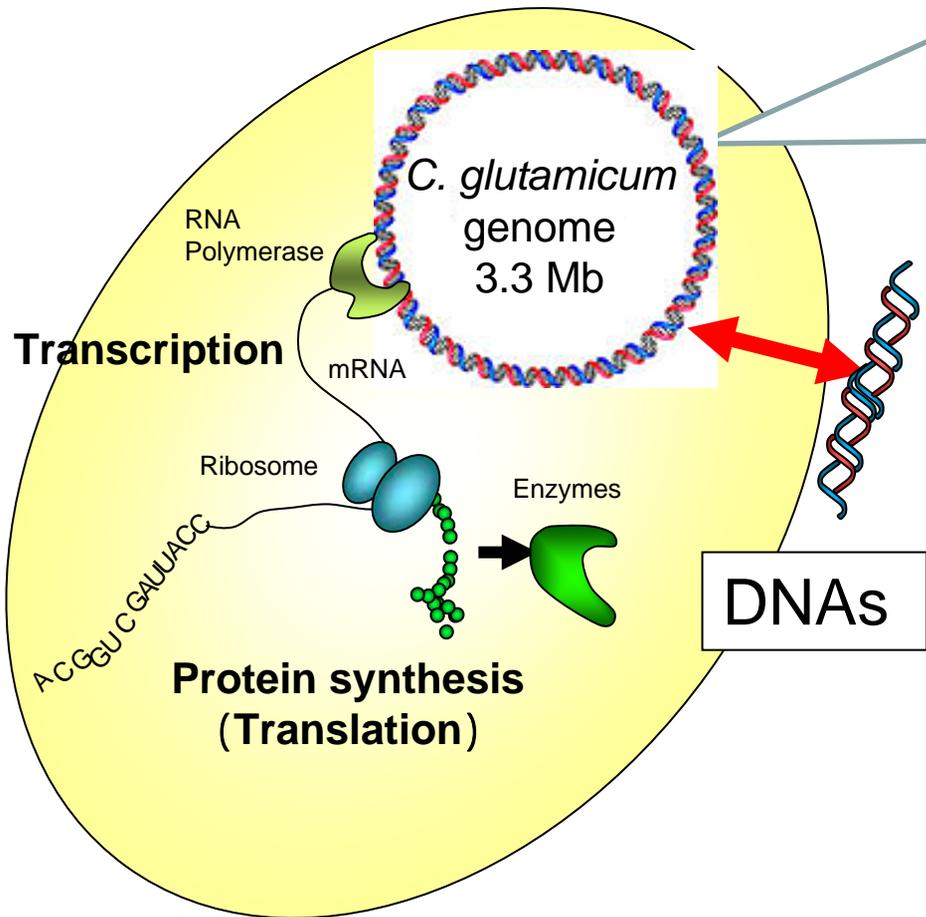
- P1) WO2009028582
 P2) WO2009131040
 P3) PCT/JP2009/060637
 P4) JP2009050236(A)
 P5) JP2009083668
 P6) JP2009039031
 P7) JP2009183259
 P8) JP2007295809
 P9) JP2007043947
 P10) EP1647594A1
 P11) WO2005010182A1
 P12) US7368268
 P13) JP4294373
 P14) JP3869788
 P15) JP4171265
 P16) EP1291428A1
 P17) US7598063
 P18) CN1436240
 P19) IN209524
 P20) JP2002510689

Publication by RITE

- 1) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:1219-1224. 2008.
 2) *Appl. Environ. Microbiol.* **72**:3418-3428. 2006.
 3) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:1053-1062. 2008.
 4) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:691-699. 2008.
 5) *Appl. Environ. Microbiol.* **75**:3419-3429. 2009.
 6) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**:105-115. 2009.
 7) *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **8**:243-254. 2004.
 8) *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **7**:182-196. 2004.
 9) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **68**:475-480. 2005.
 10) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:459-464. 2008.
 11) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**:449-454. 2008.
 12) *Microbiology* **155**:3652-3660. 2009.
 13) *J. Bacteriol.* **191**:4251-4258. 2009.
 14) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **83**:315-327. 2009.
 15) *J. Bacteriol.* **191**:968-977. 2009.
 16) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**:291-301. 2008.
 17) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **78**:309-318. 2008.
 18) *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **15**:16-30. 2008.
 19) *Microbiology* **154**:264-274. 2008.
 20) *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **8**:91-103. 2004.
 21) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **289**:1307-1313. 2001.
 22) *J. Biosci. Bioeng.* **92**:502-517. 2001.
 23) *Microbiology* **149**:1569-1580. 2003.

Genome engineering technologies in *C. glutamicum*

Multiple gene integrations and deletions



Whole genome sequence was determined

- Integration of useful genes
- Deletion of unnecessary pathways
- Single gene disruptant libraries



Publications

- 1) *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:407-416. 2005.
- 2) *Microbiology* **151**:501-508. 2005.
- 3) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **67**:225-233. 2005.
- 4) *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:3369-3372. 2005.
- 5) *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **8**:243-254. 2005.
- 6) *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:7633-7642. 2005.
- 7) *Appl. Environ. Microbiol.* **71**:8472-8480. 2005.
- 8) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **69**:151-161. 2005.
- 9) *Appl. Environ. Microbiol.* **72**:3750-3755. 2006.
- 10) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **74**:1333-1341. 2007.
- 11) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**:1683-1690. 2007.
- 12) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**:871-878. 2007.
- 13) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**:519-526. 2008.

Integrating/ strengthening
the necessary reaction pathway

エタノール生産性

菌株	生産性 (g/l/h)	最終濃度 (g/l)	C5、C6 同時利用	発酵阻害物質に 対する耐性
要求される仕様 ¹⁾	> 1	> 40		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(1-2)	(> 100)		×
<i>Zymomonas mobilis</i>	(1-5)	(> 100)		×
<i>Escherichia coli</i>	(1-2)	(50-60)		×
増殖非依存型バイオプロセス	(> 10)	(> 90)		

1) *Appl Microbiol Biotechnol.* **63**:258-266. (2003)

コハク酸生産性

菌株	最終濃度 (g/l)	生産性 (g/l/h)	Reference
<i>A. Succiniciproducens</i>	50	2.1	United States Patent 5143834 (1992)
<i>A. Succiniciproducens</i>	84	10.4	<i>Biotechnol Bioeng.</i> 99:129-135. (2008)
<i>A. succinogens</i> FZ53	106	1.4	United States Patent 5573931 (1996)
<i>E. coli</i> NZN111	28	0.7	<i>Appl Environ Microbiol.</i> 73:7837-7843. (2007)
<i>E. coli</i> AFP111/pTrc99A- <i>pyc</i>	99	1.3	<i>J Ind Microbiol Biotechnol.</i> 28:325-332. (2002)
増殖依存型バイオプロセス(条件1)	146	3.2	<i>Appl Microbiol Biotechnol.</i> 81:459-464. (2008) (RITE論文)
増殖依存型バイオプロセス(条件2)	83	11.8	<i>Appl Microbiol Biotechnol.</i> 81:459-464. (2008) (RITE論文)

D-乳酸生産性

菌株	最終濃度 (g/l)	生産性 (g/l/h)	Reference
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	63	1.3	<i>Macromolecul Biosci.</i> 4: 1021-1027. (2004)
<i>E.coli</i> RR1	62	2.1	<i>Appl Environ Microbiol.</i> 65: 1384-1389. (1999)
<i>E. coli</i> W3110 SZ63	49	0.5	<i>Appl Environ Microbiol.</i> 69: 399-407. (2003)
<i>E. coli</i> MT-10934/pGlyldhA	65	1.3	特開2005-102625 (2005)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> OC2	62	1.4	<i>J Biosci Bioeng.</i> 101: 172-177. (2006)
<i>E. coli</i> SZ194	92	2.1	<i>Biotechnol lett.</i> 28: 663-670. (2006)
増殖非依存型バイオプロセス	110	40.0	<i>Appl Microbiol Biotechnol.</i> 78: 449-454. (2008) (RITE論文)

バイオ燃料

セルロース・エタノール：ベンチ/パイロット研究、ビジネスプラン策定

セルロース・ブタノール：基礎研究段階、研究加速

水素、脂肪酸：調査研究

グリーン化学

技術実証生産へ全力

研究対象物質(製品群)拡大へ

- 芳香族化合物
- アミノ酸(飼料用途アミノ酸)

エネルギー密度高、パイプライン可

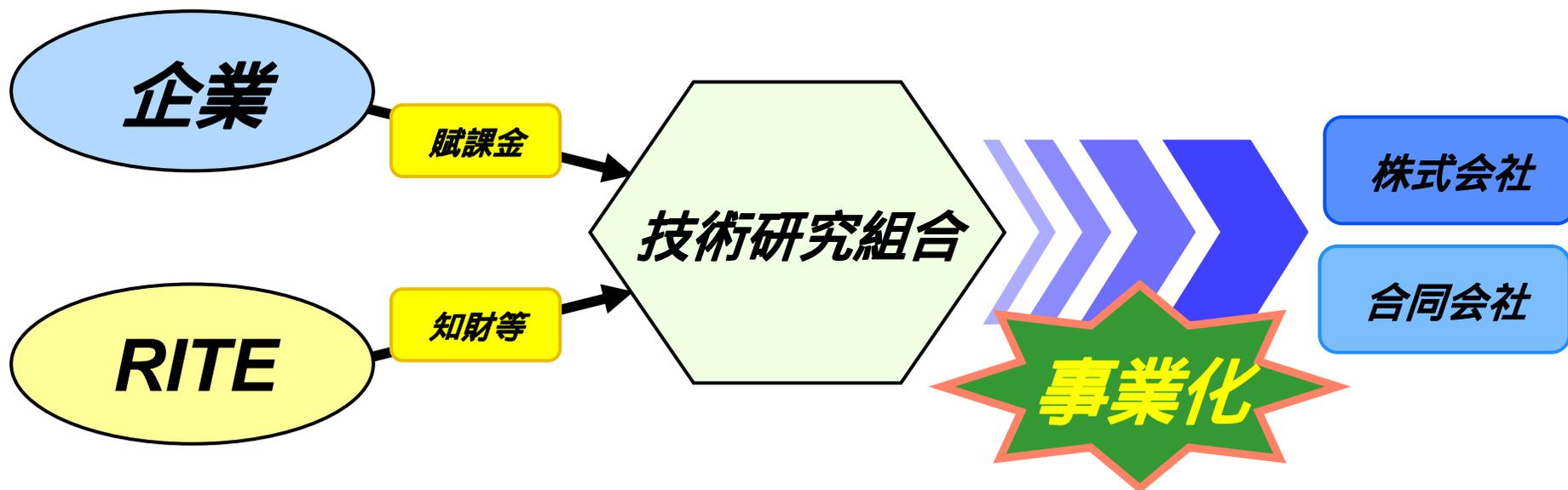
期待される用途

- 航空機
- 船舶
- ハイブリッド車
- 農・土木車輜
- ディーゼルエンジン車

実用化に向けて：技術研究組合の設立

■ 旧「鉱工業技術研究組合」制度改革 (2009.6)

- 企業と公的研究機関との共同研究が可能
- 2者から組合設立可能
- 共同研究終了後営利会社化し、そのまま事業化可能



飼料用アミノ酸革新製法確立へ向けて

■ 飼料用アミノ酸の必要性

人口増加、穀物飼料 ∞ 食料、BSE対策等

■ 現在の需要規模(2008年)

L-リジン 120万t、L-スレオニン 16万t、トリプトファン 0.3万t

今後望まれているアミノ酸: バリン、イソロイシン、アルギニン他

■ 現製法(日本、アジア諸国、米国、EUの多くの企業が工業生産)

原料: 食料系バイオマス

通気攪拌醗酵法

■ RITEバイオプロセスの狙い・メリット

- 非食料バイオマスからの生産
- 非増殖・非通気条件
- 革新的な高生産性

CO₂削減に対するバイオリファイナリーの貢献

■ バイオ燃料

セルロース・エタノール： 米国DOE試算

セルロース・ブタノール (Next Generation Fuel)

■ グリーン化学工業

RITE試算 (一次検討結果)

バイオマス使用:

現行クラッキング工程でのCO₂発生分削減

製品の廃棄 (焼却) によるCO₂発生分削減

CO₂削減に対するバイオリファイナリーの貢献

■ バイオ燃料

セルロース・エタノール： 米国DOE試算

セルロース・ブタノール (Next Generation Fuel)

■ グリーン化学工業

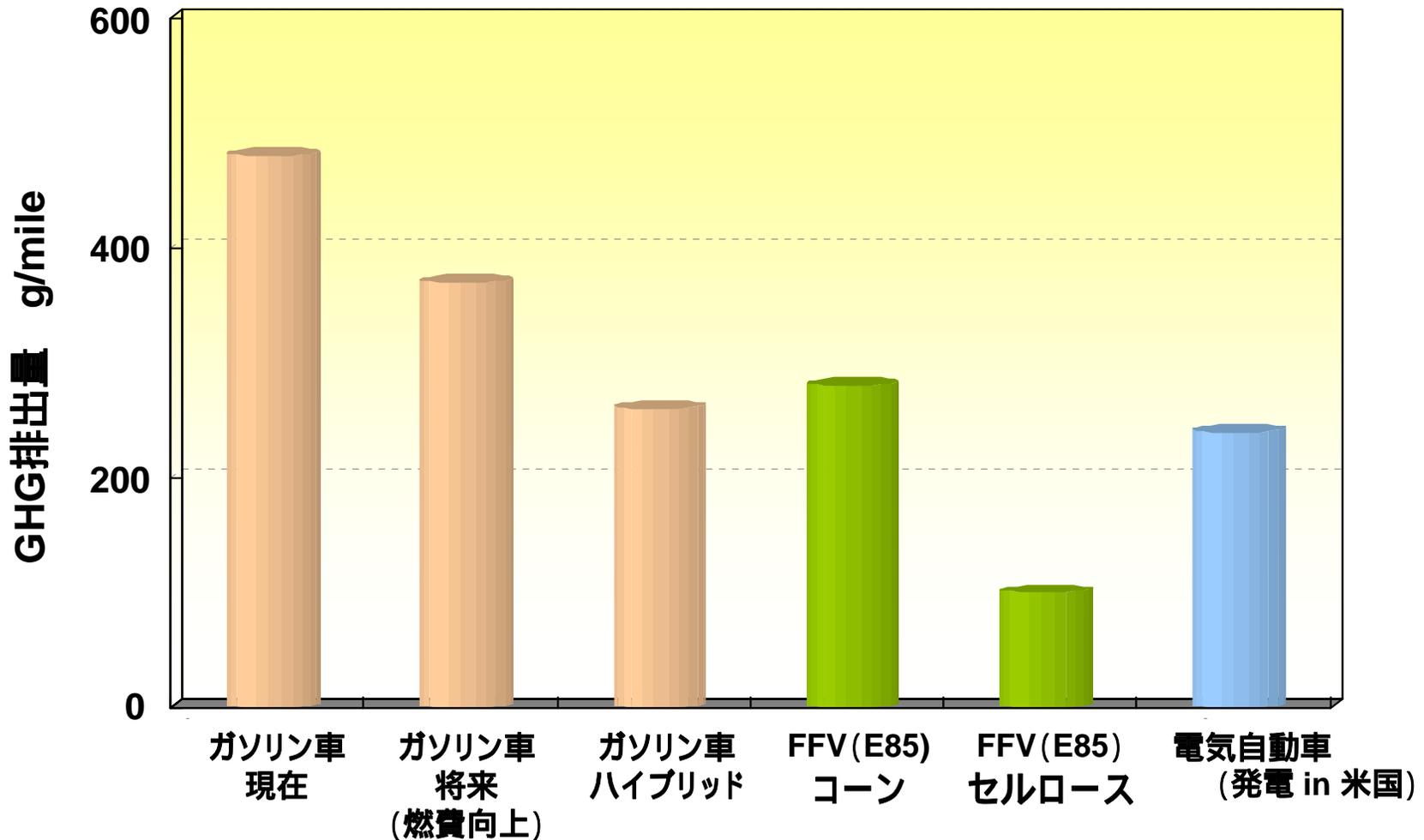
RITE試算 (一次検討結果)

バイオマス使用:

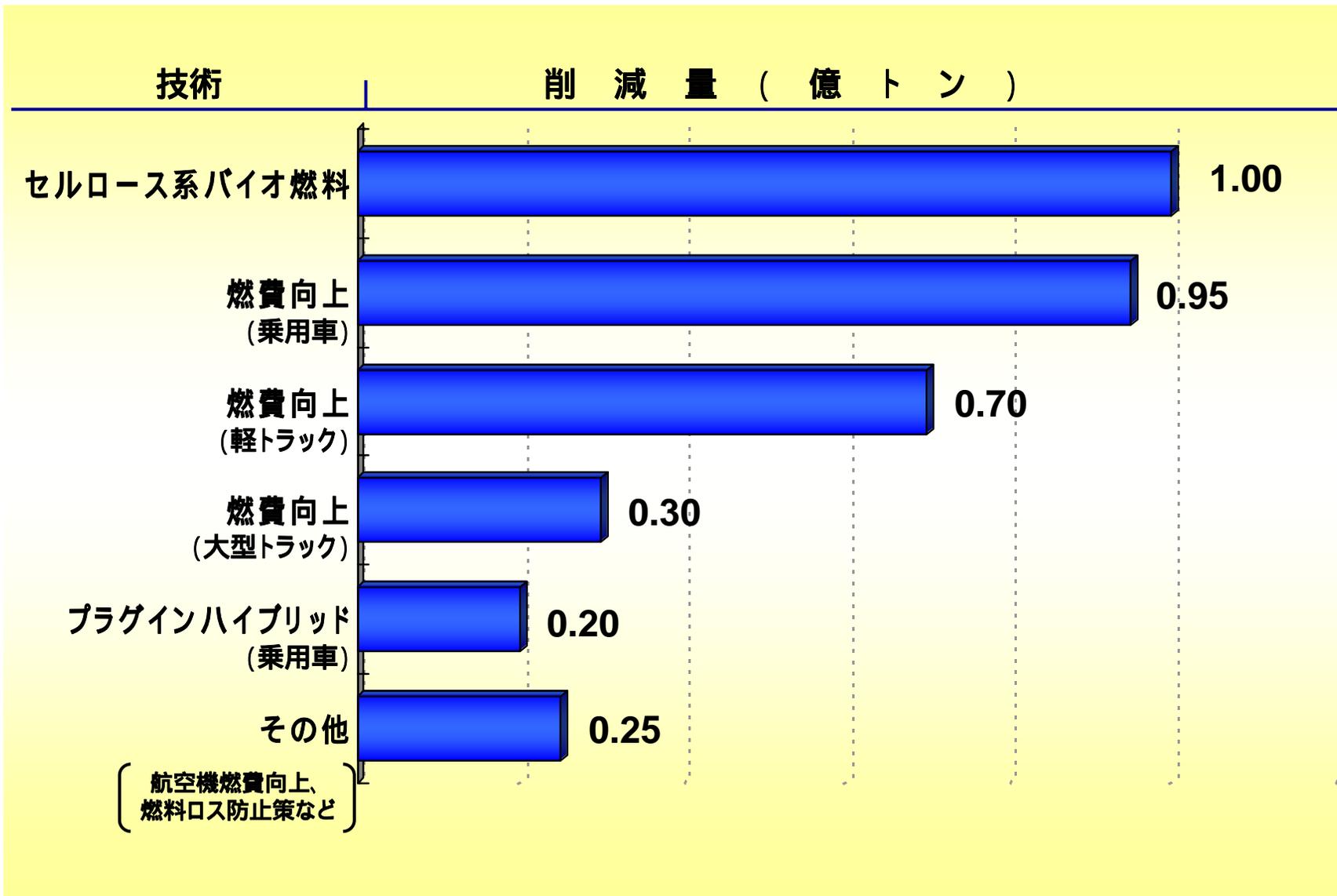
現行クラッキング工程でのCO₂発生分削減

製品の廃棄 (焼却) によるCO₂発生分削減

自動車の技術別GHG排出量



運輸部門におけるGHG削減：米国 at 2030



CO₂削減に対するバイオリファイナリーの貢献

■ バイオ燃料

セルロース・エタノール： 米国DOE試算

セルロース・ブタノール (Next Generation Fuel)

■ グリーン化学工業

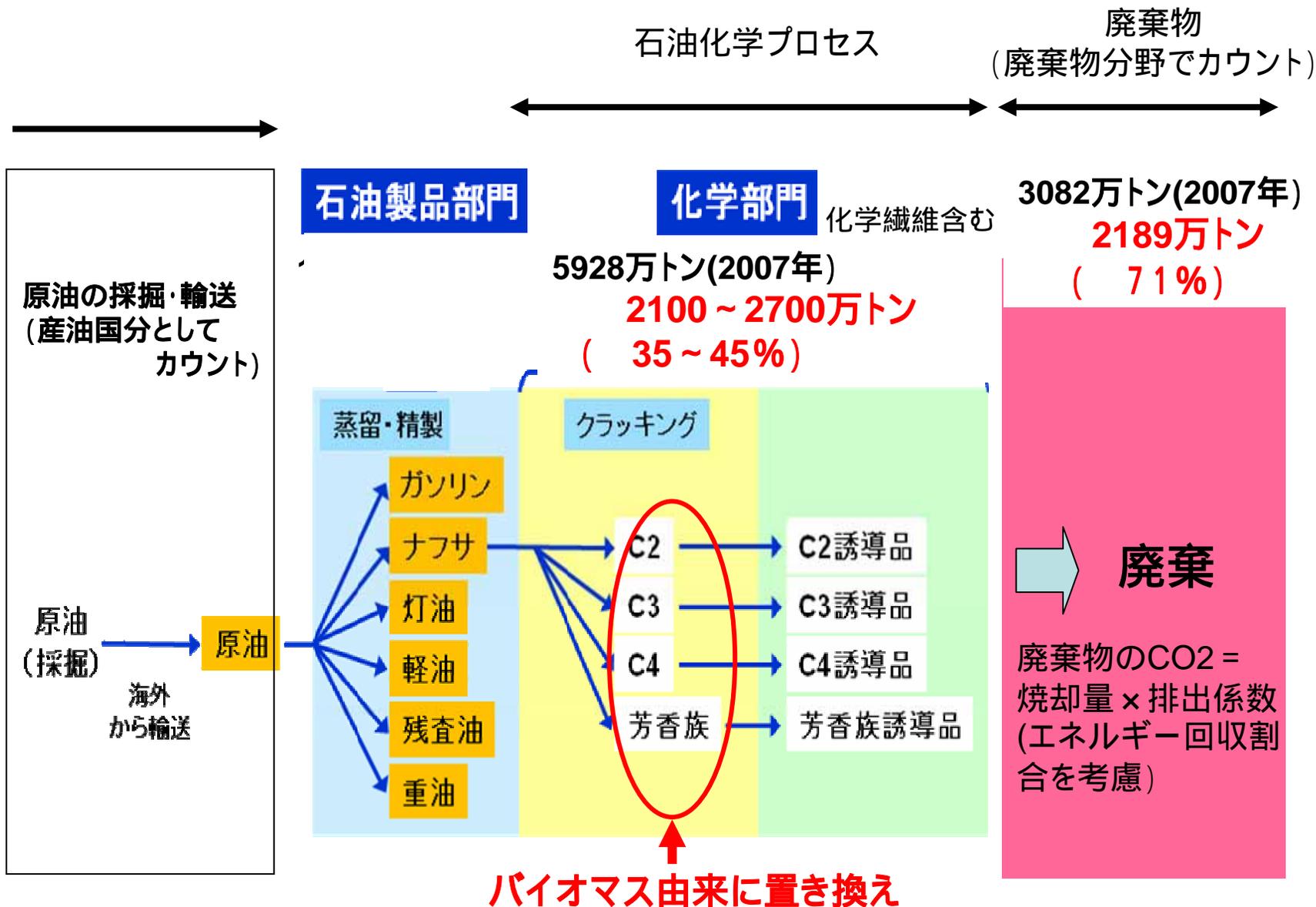
RITE試算 (一次検討結果)

バイオマス使用：

現行クラッキング工程でのCO₂発生分削減

製品の廃棄 (焼却) によるCO₂発生分削減

RITE試算： 化学工業のグリーン化によるCO₂削減



グリーン化学工業実現への課題

1. 安価なバイオマスの確保

国内立地： 海外で糖化し、“糖液”輸入も1つの方法

糖液輸入の場合；

リグニンの熱源利用不可

プロセスエネルギーの小さな“自立型プロセス”

2. 芳香族化合物のグリーン化技術の構築要

RITEでは化学品グリーン化実現に向けて原料入手を含めたシステム検討を行い、実用化に向けた課題を明確にするとともに、目的に沿った技術開発を推進していきたい。

まとめ： バイオリファイナリーの実用化に向けて

■ 技術面

革新技术“RITEバイオプロセス”をコアに周辺技術の活用 / 高度化

- “膜システム”： 生成物回収・精製の省エネ・コストダウン
- バイオマスから混合糖調製における“前処理工程”の高度化

■ ビジネスプラン

バイオマス資源(地域、選別、栽培、収穫等)から市場まで
(バイオ燃料 + 化学品) ビジネスモデル策定

■ “25%削減”への寄与

グリーン化学品による削減効果算出(RITE試算の精査)

次世代バイオ燃料の削減効果算出

バイオリファイナー

非可食セルロース



<RITEバイオプロセス>

(増殖非依存型バイオプロセス)

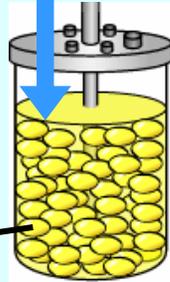
反応槽に微生物を高密度充填し
反応する。

混合糖完全同時利用可

発酵阻害物質耐性

高生産性

菌体触媒
(非増殖)



C2
エタノール

C3
プロパノール

C4
ブタノール等

芳香族類
カルボン酸
アミン等

グリーン化学品適合化学反応技術

自動車部材、包装材
電気製品部材、炭素繊維
各種樹脂 等



バイオ燃料(エタノール、ブタノール他)