

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

【コアメンバー】

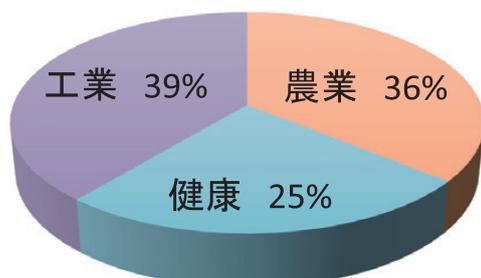
サブリーダー・副主席研究員	佐々木朱実	主任研究員	小暮 高久
副主席研究員	稲富 健一	主任研究員	久保田 健
副主席研究員	寺本 陽彦	主任研究員	大島 俊宏
副主席研究員	平賀 和三	研究員	生出 伸一
主任研究員	田中 裕也	研究員	橋本 龍馬
主任研究員	須田 雅子	研究員	清水 哲
主任研究員	北出 幸広	研究員	橋詰 正義
主任研究員	豊田 晃一	研究員	原 知明
主任研究員	加藤 直人	研究員	肥後 明佳
主任研究員	長谷川 智	研究員	ナタリア マリア テレシア
主任研究員	渡邊 彰		

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

1. はじめに

生物機能を利用したバイオテクノロジーは、医療や農業、工業などの分野に幅広く貢献している。近年、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「バイオエコノミー」というコンセプトが欧米を中心にアジアまで拡大しており、経済協力開発機構（OECD）によると、「2030年バイオ市場は加盟国全体で約180兆円規模に拡大、工業分野は約4割に達する」との予測である（図1）。当グループでは、このバイオエコノミーの中核技術であるバイオリファイナリー技術、即ち再生可能資源（バイオマス）を原料としてバイオ燃料やグリーン化学品を製造する技術の開発を進めている。本項では、まずバイオ燃料やグリーン化学品生産について、世界の概況を紹介する。

2030年、約1.6兆ドル



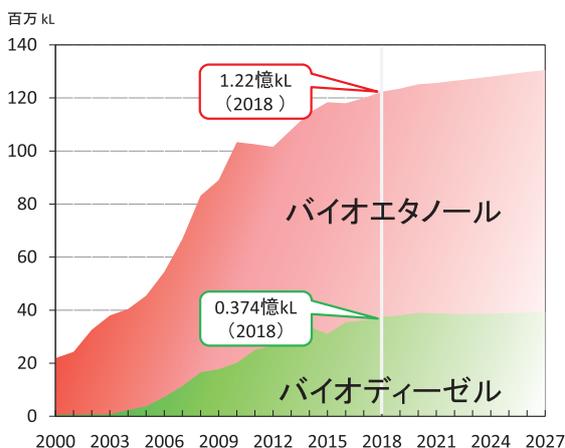
出典：The Bioeconomy to 2030. OECD(2009)、経産省資料

図1 バイオエコノミー市場予測

バイオ燃料の代表であるバイオエタノールは、米国ではトウモロコシ、ブラジルではサトウキビを原料として生産され、ガソリンに10～25%混合されて自動車用燃料として供給されている。最大の生産・消費国である米国では、2018年もトウモロコシは豊作であり、米国エネルギー情報局（EIA）によれば、159億ガロン（6,010万kL）のバイオエタノールが生産された。米国における再生可能燃料基準（RFS）に基づいた再生可能燃料添加義務量（193億ガロン、2018年）の約3/4がトウモロコシ由来のバイオエタノールで賄われた。OECD-FAOの「Agricultural Outlook 2018-2027」によれば、2018年は1.22億kLのバイオエタノールが世界で生産され、その半分を米国が占めた。この割合はここ数年変わっていない。

バイオディーゼルは、欧州では主に菜種、米国では大豆を原料として生産されており、2018年のバイオディーゼル生産量は0.374億kLと予測されている（図2）。最大の消費地は、ディーゼル自動車の割合が多いフランスやドイツなどの欧州である。

最近ではアルゼンチンやインドネシアのバイオディーゼル原料輸出量が増加している。しかし、英国やフランスでは2040年までにガソリン車・ディーゼル車の販売を終了する予定であり、ドイツでもディーゼル車の市街走行が禁止される判決が認められた。したがって、欧州ではディーゼル燃料の消費は増加しない方向



出典：OECD/FAO (2018), "OECD-FAO Agricultural Outlook".
図2 世界バイオ燃料生産の見通し

と予想される。

原料が食料資源と競合しない第2世代バイオ燃料であるセルロースエタノールは、トウモロコシ等の農業残渣を原料として生産されることから、CO₂排出削減への大きな期待が寄せられてきた。現在、米国とブラジルの2か国で大規模セルロースエタノールプラントが稼働中で、2018年は欧州でも新しいプラントの建設が報告された（各社website）。RFSIによる米国でのセルロース系原料からのバイオ燃料の2019年の生産目標は4.18億ガロン（約160万KL）である。

航空機からのCO₂削減の切り札であるバイオジェット燃料は、年々普及が進んでおり、海外では調理用廃油などを利用したバイオジェット燃料による商業飛行が継続されている。RITEでもバイオエタノールを原料とした民間のバイオジェット燃料生産プロジェクトへの技術協力を2018年から開始した（トピックス参照）。

グリーン化学品

近年、ペットボトルや使い捨てプラスチックによる環境破壊の問題が国際的な問題としてクローズアップされている。特に海洋におけるマイクロプラスチック汚染は深刻であり、また中国や東南アジアの廃棄プラスチック輸入禁止は、日本のプラスチックリサイクルに大きな影響を及ぼしている。このような背景から、再生可能資源であるバイオマスを原料としたバイオプラスチックや生分解プラスチックに大きな期待が寄せられている。

欧州バイオプラスチック協会によると、2019年の

バイオプラスチックの世界生産量は214万トンの予測であり、徐々に拡大している。欧米の一部では使い捨てのプラスチックボトル等の公園での販売禁止や回収・リサイクルが義務付けられる法案が可決されている。日本バイオプラスチック協会によると日本でのバイオプラスチック出荷量推計は約4万トンと少ないが、環境省ではプラスチックごみを削減するため、生分解プラスチックを使った製品開発への委託事業などを2019年から開始する予定である。

2. RITEバイオプロセスの特徴

当グループでは、これまでに新規技術コンセプトに基づく革新バイオプロセスRITEバイオプロセス（増殖非依存型バイオプロセス）を確立し、バイオ燃料やアミノ酸、芳香族化合物を始めとしたグリーン化学品を、高経済性で製造する技術開発に大きな成果を上げ、国内外から高い評価を得ている。

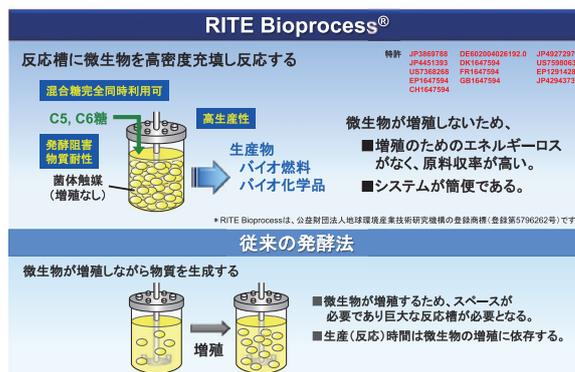


図3 RITEバイオプロセス（増殖非依存型バイオプロセス）の特徴

本プロセスの特徴は、目的物質を効率的に生産できるように高度に代謝設計されたコリネ型細菌（スマートセル）を大量に培養し、細胞を反応槽に高密度に充填後、嫌気的な条件や、増殖に必須な因子を削除することにより細胞の分裂を停止させた状態で反応を行う（図3）。高効率化の鍵は、微生物の増殖を抑制した状態で化合物を生産させることにあり、増殖に必要な栄養やエネルギーも不要である。これにより微生物細胞をあたかも化学プロセスにおける触媒のように利用することが可能で、通常の化学プロセスと同等以上の高い生産性を備えたバイオプロセスが実現した。また、コリネ型細菌の代謝系の改良により、C6糖類およびC5糖類の完全同時利用を達成し、効率的なセルロース系バイオマス利用を可能とした。さらに、本プロセ

スは、セルロース系バイオマスを加水分解した混合糖に存在するフラン類等の発酵阻害物質に対しても耐性が高い（詳細はRITE Today 2013～2018参照）。

現在、エタノール、L-乳酸、D-乳酸、アミノ酸等の高効率生産に加えて、ブタノールやジェット燃料素材、芳香族化合物などの高機能化学品生産へ幅広い展開を図っている。次章では、当グループの主要ターゲットであるバイオ燃料の生産技術開発について紹介する。

3. バイオ燃料の生産技術開発

3.1. バイオブタノール

ブタノールは、ガソリン代替としてエタノールよりもエネルギー密度が高く、蒸気圧が低く、水と混和しにくいという優れた特性を有している。さらにブタノールを出発原料として化学変換によってジェット燃料を製造することができる。即ち、植物由来のバイオブタノールから製造したバイオジェット燃料で航空機を飛ばすことができる。航空機からのCO₂排出削減にはこれが必須と認識され、業界団体の動きが加速している。ブタノールを原料としたジェット燃料は、Alcohol to Jetを略してATJ燃料と呼ばれ、2016年に米国材料試験協会（ASTM）の規格をクリアして、商業フライトへの利用が可能となった（<http://www.gevo.com/>）。

こうした動きに先駆け、当グループでは、RITEバイオプロセスを利用した高効率バイオブタノール生産プロセスの開発を進めている。2015年度からは、経済産業省の「革新的なエネルギー技術の国際共同研究開発事業」を推進中である。我々の生産技術の特徴は、原料としてセルロース系バイオマスを利用可能で、且つ高速・高収率生産が可能にある（図4）。

しかし、ブタノールは細胞毒性が強い問題がある。そこで、本事業では高度な育種技術により、RITEバイオプロセスの高い生産性を更に引き上げると共に、米国立再生可能エネルギー研究所（NREL）との共同

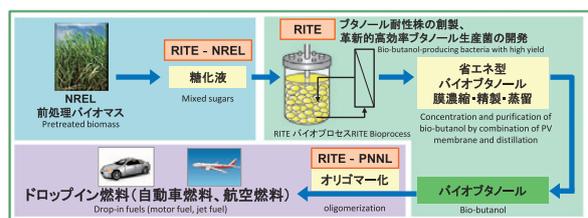


図4 RITEバイオプロセスによるバイオブタノールおよびジェット燃料生産

研究により、非可食バイオマス由来の混合糖を原料としたバイオブタノール生産技術の開発を加速させている。

更に、2017年からは米パシフィック・ノースウエスト国立研究所（PNNL）との共同研究により、ブタノールを化学的にオリゴマー化したり、ブタノールのバイオ生産時に原料由来の酢酸を同時にエタノール化し、ブタノール/エタノールの混合物をオリゴマー化する新しいアイデアに基づいて、ジェット燃料などのdrop-in燃料に変換する技術開発を進めている。

ブタノール生産においては、蒸留におけるエネルギー消費が大きいことから、蒸留とPV（pervaporation）膜濃縮を組み合わせることによって、精製に必要なエネルギーを約10分の1に低減する省エネルギー型ブタノール回収技術の開発も並行して進めている。ブタノールのバイオ生産では、世界最高レベルの高生産性を達成しており、生産菌のブタノール耐性の向上、生産菌の代謝経路の最適化、および上記省エネルギー型ブタノール回収技術の開発、などの個別要素技術開発を進め、これらを組み合わせることによってバイオブタノールの更なる高速・高収率な生産を目指している。

3.2. グリーンジェット燃料

ジェット燃料は炭素数9～15個のイソパラフィン、シクロパラフィン、芳香族化合物等の混合物で、含量比は原料である原油中の含量比を反映し、産地ごとに異なる。

ジェット燃料は析出点や密度など様々な物性が厳密に規格化されている。ASTMによって認証済みのバイオジェット燃料はいずれもイソパラフィンを主成分とし、石油系ジェット燃料と最大で50%までの混合使用が認められているが、密度の制約から実際には50%も混合できない場合がある。

イソパラフィンとシクロパラフィンや芳香族化合物より密度が軽く、石油系ジェット燃料の密度は各含量を反映して産地によって異なる（図5）。イソパラフィンを主体とする既存のバイオジェット燃料の密度はシクロパラフィンや芳香族化合物を含まないためジェット燃料の規格を下回り、中東やアフリカ産の密度が軽い石油系ジェット燃料に対して50%も混合すると混合燃料の密度も規格を下回り、ジェット燃料として使用できなくなる。

そこで当グループではシクロパラフィンや芳香族化合物も含み、単独でも密度の規格を満たすことで石油系ジェット燃料の産地に依存せずに最大限混合可能な新規グリーンジェット燃料の開発を行っている。また、含有する成分の炭素数分布を石油系ジェット燃料と類似した分布にすることで、最大で100%使用も可能にする。

本技術ではエネルギー消費が小さいバイオプロセスによってジェット燃料サイズの分岐鎖および環状前駆体を非可食バイオマスを原料として生成させ、これらを簡単な化学変換によってイソパラフィン、シクロパラフィン、芳香族化合物に変換させる。すでにこれらの基盤技術はほぼ確立し、様々な炭素数の分岐鎖および環状前駆体の生産を達成しており、一部前駆体についてはジェット燃料成分への化学変換も実証済みである。現在、一貫プロセスの構築に向け、各前駆体の生産収率向上を進めている。なお、本製造技術開発の一環として、2017年から経済産業省の「革新的なエネルギー技術の国際共同研究開発事業」において「様々な有用化学品の低コスト・低炭素型生産を可能にする革新的高汎用性バイオプロセスの開発」も実施している (RITE Today 2018トピックス参照)。

CRC fuel survey を参照

	JetA1 規格	石油系ジェット燃料の密度 (生産地別)			
		USA	ヨーロッパ	アフリカ	中東
密度 (g/cm ³)	0.775- 0.840	0.810	0.800	0.785	0.790
		HEFA FT-SPK ATJ	RITE法		
製造される成分		イソパラフィン	イソパラフィン シクロパラフィン 芳香族化合物		
成分の密度 (g/cm ³)		0.75 前後	0.79		
混合比率		50%	最大100%		

図5 石油系ジェット燃料およびバイオジェット燃料の密度の比較

3.3. バイオ水素

水素は燃焼時に水しか生成しないため、究極のクリーンエネルギーとして期待される。既に家庭用燃料電池や燃料電池車が市場投入されているが、現行の主要な水素製造技術は化石エネルギーを原料とするため、これに由来するCO₂の排出が大きな課題となる。この課題を克服するため、再生可能エネルギーから水素を安定的かつ安価に製造する技術について中長期的な基盤的研究が必要とされており、経済産業省のロードマップでは、2040年頃までにCO₂フリー水素供給シ

ステムを確立することが目標として掲げられている。

微生物を利用した水素生産 (バイオ水素生産) は、将来の持続可能なCO₂フリー水素製造技術となり得るが、経済性あるバイオ水素生産技術の確立には、生産性の飛躍的な向上が必要とされる。当グループは、シャープ株式会社との共同研究により、ギ酸を介する水素生産経路を利用した高速バイオ水素生産プロセスを開発し、従来技術と比較して2桁程度高い生産速度を達成している。この成果を基盤として、現在、経済産業省の「革新的なエネルギー技術の国際共同研究開発事業」の中で、光エネルギーに依存しない「暗発酵水素生産」と光エネルギーを利用する「光発酵水素生産」の統合による水素収率の大幅向上に向けた研究開発に取り組んでいる (図6)。

本研究開発では、京都大学およびフランス国立科学研究センター (CNRS) と連携して暗発酵における水素生成酵素発現系の開発を進め、また、暗発酵で副生する酢酸から光発酵により水素を生産する光合成細菌の酢酸代謝経路を改変することにより水素収率が向上した。さらに、NRELと連携してセルロース系バイオマス (コーンストーバー) からの水素生産における条件検討を進めている (図6)。

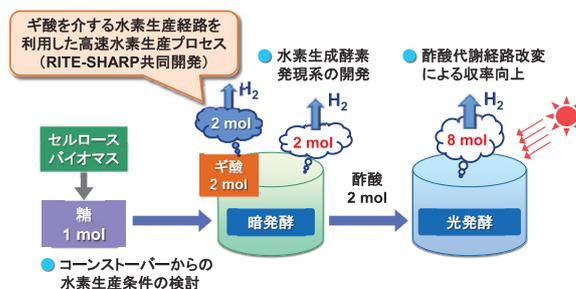


図6 セルロース系バイオマスからの高効率バイオ水素生産プロセスの研究開発

4. バイオ化学品の生産技術開発

4.1. NEDOスマートセル

バイオテクノロジーの急速な進展により、これまで利用し得なかった、潜在的な生物機能を引き出すことが可能となった。この大きな技術革新の流れを背景に、経済産業省は「高度に機能がデザインされ、機能の発現が制御された生物細胞」をスマートセルと定義し、これを活用した新産業 (スマートセルインダストリー) 創出の戦略を示した。

これを受けてNEDOが実施する「植物等の生物を

用いた高機能生産技術の開発」(スマートセルプロジェクト)にRITEは2016年のスタート当初から参画し研究開発を継続している。プロジェクト参画機関は基盤技術チームと有効性検証チームに別れており、RITEは後者に属している。基盤技術チームは計算機シミュレーション等の情報解析技術(スマートセル設計システム)を用いて生産性向上に寄与する代謝改変を予測し提案する。RITEは提案に従い代謝改変を施し、生産検討データを取得する。得られたデータを利用して基盤技術チームは予測の精度を改善する。このような開発サイクルを繰り返すことで予測技術の精度向上と生産性向上を目指す(図7)。

これまでに複数の開発サイクルを繰り返すことで予測技術の精度向上に貢献するとともに中間目標を大きく超える生産性を達成した。2019年度以降も開発サイクルを続け、スマートセル設計システムの改善と、実用化に向けた生産株の開発を行う。

NEDO Smart Cell Project

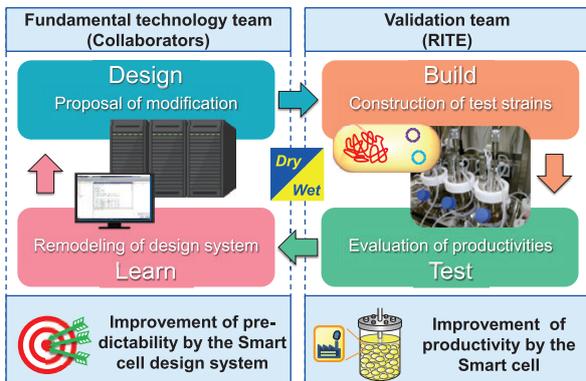


図7 スマートセルプロジェクトにおける開発サイクルの概要

4.2. 様々な芳香族化合物への展開

芳香族化合物はポリマー等の原料として重要な基幹工業化学品であると同時に、医薬品、機能性栄養素材、香料、化粧品等の原料となる高付加価値な化合物が多く存在する。芳香族化合物は現在、石油や天然の植物等を原料として製造されているが、脱石油依存、環境保全、および生産性の観点から、高効率なバイオ生産法の確立が望まれている。微生物細胞内ではフェニルアラニン、チロシン、トリプトファンといったアミノ酸や葉酸(ビタミンB9)、補酵素Qなど種々の芳香族化合物が生合成されている。これらの化合物は全てシキミ酸経路と呼ばれる代謝経路から派生する(図8)。我々は適切な遺伝子組換えを施したコリネ型細

菌を高効率バイオ変換技術へ適用することで、非可食バイオマス为原料としてインフルエンザ治療薬タミフルの原料とされるシキミ酸、ポリマー原料として有望な4-アミノ安息香酸および医薬品や化粧品原料として有望な芳香族ヒドロキシ酸の高生産プロセスの確立に成功している。

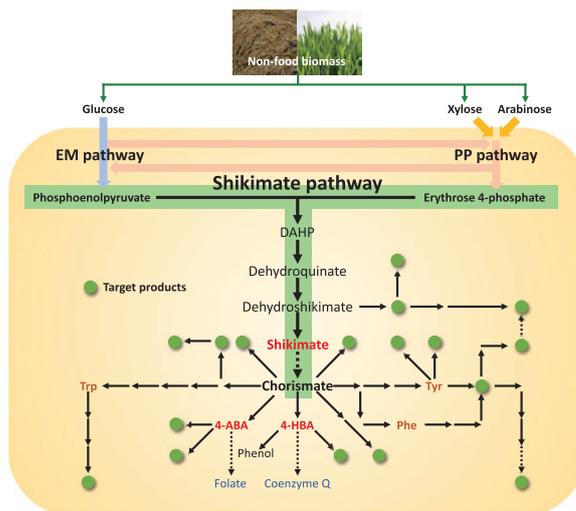


図8 様々な芳香族化合物の生合成経路

また、多種生物由来の遺伝子を導入することにより本来合成できない有用芳香族化合物についても高生産菌株の育種を進めており、前述したスマートセルプロジェクトにおいて開発された技術を適用することで更なる生産性向上を図る。

5. 実用化への取り組み

5.1. フェノール/芳香族化合物

現在の工業生産されているフェノールはすべて石油由来の原料から製造されている。我々は地球環境保全や温室効果ガス削減の観点からグリーン化が困難とされてきたバイオ法によるフェノール製造技術開発を進めてきた。我々の開発した2段工程法(図9)を利用した実用生産を早期に実現するため、住友ベークライト株式会社と共同で2014年5月にグリーンフェノール開発株式会社(GPD)を設立した。2018年4月に

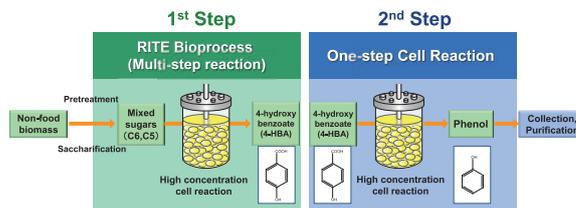


図9 2段工程法によるグリーンフェノール生産

はGPDはグリーンケミカルズ株式会社（GCC）へ社名を変更した（トピックス参照）。

現在、グリーンフェノール生産技術開発で培った基盤技術とノウハウを活用し、従来は不可能と考えられていた芳香族化合物などの付加価値の高い様々なグリーン化学品のバイオ変換技術の確立を鋭意進めており、顧客ニーズに合致したグリーン化合物の商品化を加速している。

5.2. アミノ酸

一般的なアミノ酸発酵は、微生物の培養と発酵生産に通気（酸素）を必要とし、この通気量が適切にコントロールされることが、高生産性の達成に重要である。これに対してRITEでは、前述したように通気の必要のないRITEバイオプロセスを用いて、シンプルなプロセス制御による省エネルギー、高生産なアミノ酸生産プロセスの開発を進めてきた。非通気条件でアミノ酸を生産するには、酸素を使わずに細胞内の酸化還元バランスを適正に保つ仕組みが必要であり、この目的のためには非天然型のアミノ酸合成経路を細胞に導入する必要がある。当グループでは、こうした課題を解決した非通気条件でのアミノ酸生産プロセスのコンセプトを2010年に学術雑誌に発表した（Appl. Microbiol. Biotechnol. 87: 159-165. 2010.）。

RITEは、RITE発ベンチャー企業Green Earth Institute株式会社（GEI）を2011年9月に設立し、RITEバイオプロセスによるアミノ酸等のバイオ化学品やバイオ燃料の事業化を目指した共同研究を実施している（トピックス参照）。本共同研究において、アミノ酸の一種であるアラニン生産に関しては、生産菌株の開発、スケールアップ検討やコスト低減のための各種検討を進め、2016年には、GEIの国内パートナー企業が保有する商業スケールの発酵槽を用いた試験生産に成功し、実用生産の段階に進んでいる。試験生産には、当グループの研究者も参加し、現地の職員と力を合わせて成功へ導いた。RITEが開発したアラニン生産株を利用して生産されたL-アラニンは、2017年8月、厚生労働省食品安全委員会による評価の結果、食品添加物としての安全性が確認され、工業用途のみならず食品添加物としても利用可能になった。現在、海外の複数の国でのアラニン生産プロジェクトが進行中である。また、アミノ酸の一種であるバリン生産に

関してもRITEは世界最高レベルの生産濃度と生産効率の菌株作製に成功し、更にGEIや海外パートナー企業との実用化プロジェクトを本格化させ、スケールアップによるサンプル製造等にも成功し、商用生産を開始した。

6. おわりに

日本では2018年から5年間、年間50万KLのバイオエタノールを導入する目標が政府から発表された。GHG排出量の削減基準についても見直しが行われ、米国産のバイオエタノールなど調達先の多角化が可能になる予定である。

バイオ化学品の分野では、近年発展が著しいIoTやAIなどの情報技術（デジタル）とバイオテクノロジーの融合に基づいた新プロジェクトが政府主導により開始され、RITEも参画している（トピックス参照）。これらのプロジェクトでは、前述したスマートセルを利用したバイオリファイナー技術が中核技術として大きな役割を果たし、エネルギーに加えて工業分野（ものづくり）にも大きな波及効果を与えることが期待されている（図10）。

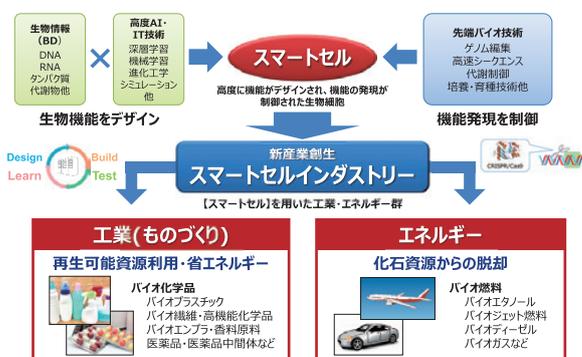


図10 バイオ×デジタルが変える工業/エネルギー分野の融合

当グループでは2019年も引き続き最先端バイオテクノロジーである「スマートセル」を中心とした革新的なグリーンバイオプロセスの研究開発に取り組み、低炭素社会の構築や持続可能社会の実現に貢献していきたい。