

電気エネルギーを利用し大気CO₂を固定する バイオプロセスの研究開発



PM:加藤創一郎

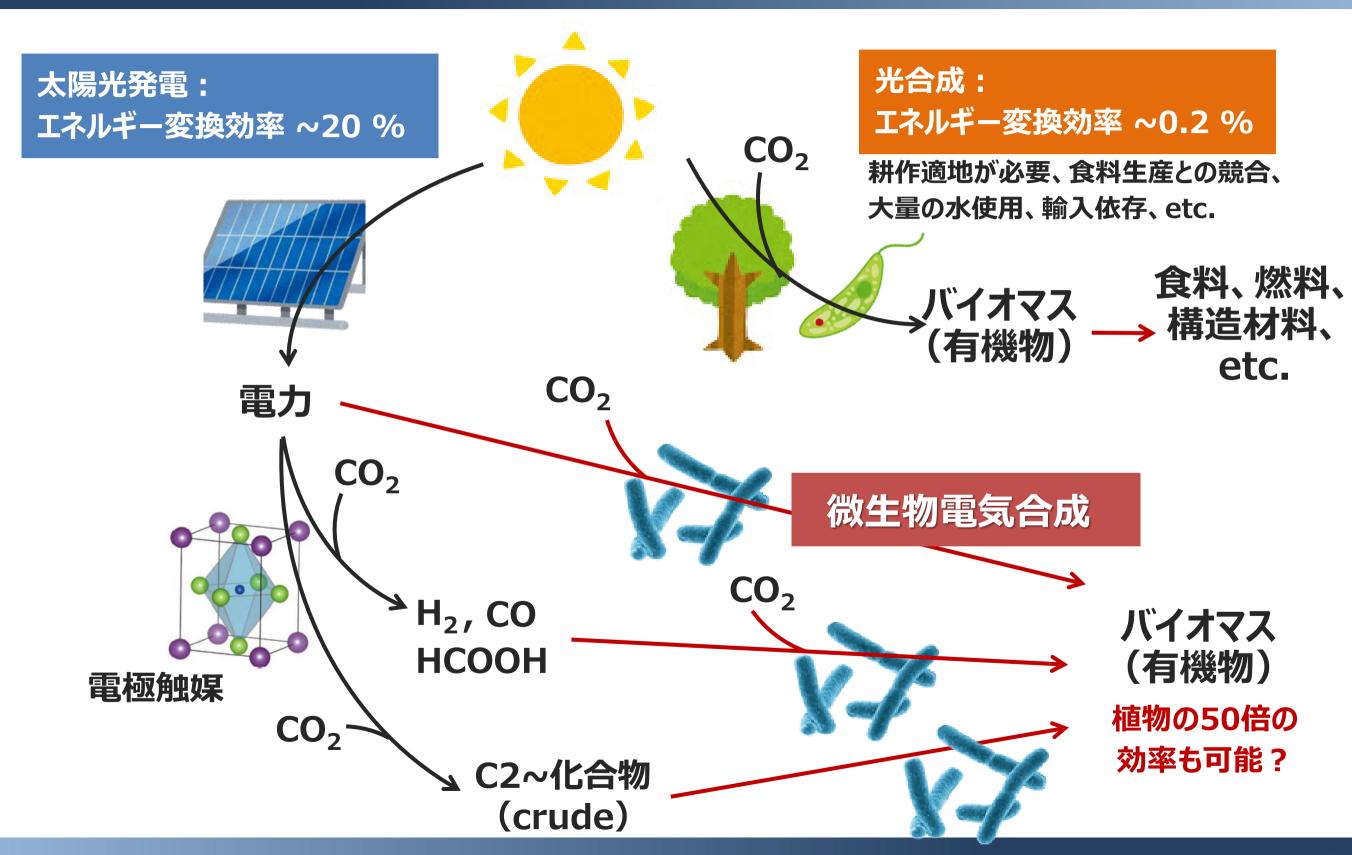
国立研究開発法人產業技術総合研究所•上級主任研究員

共同実施機関:東京工業大学、名古屋大学

再委託先機関:神戸大学、大阪大学

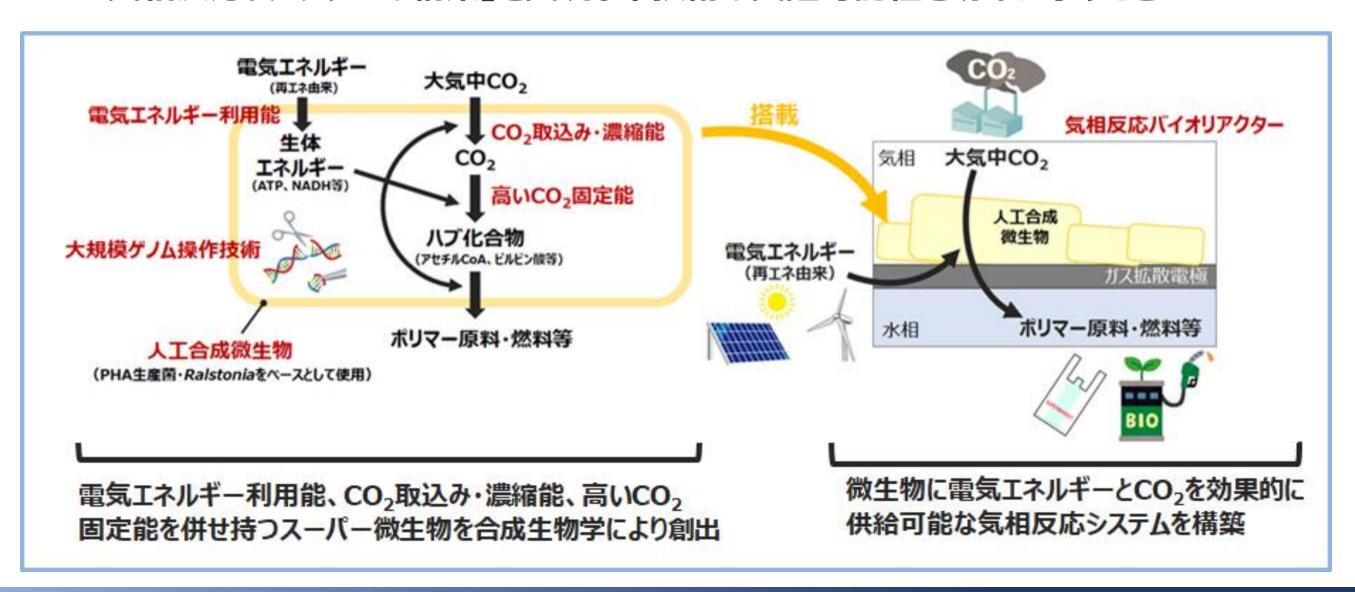
研究開発期間:2020年度~2022年度

コンセプト バイオ・マテリアルの融合/脱光合成

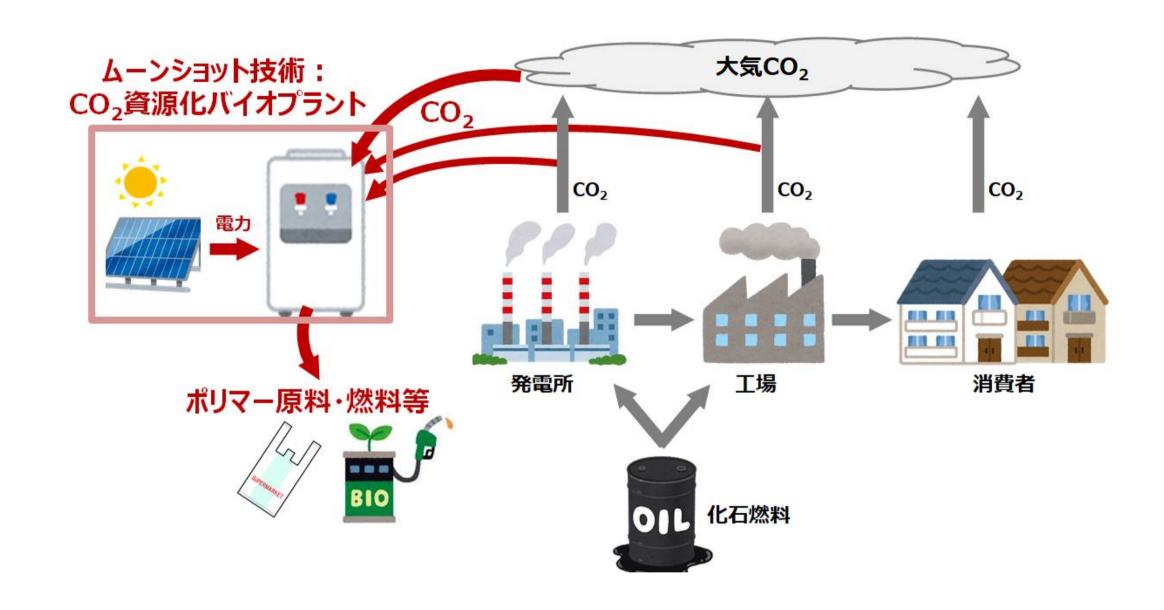


研究開発概要·PJ全体目標

- ■微生物を用いた革新的なCO2資源化・ネガティブエミッション技術の開発
- ■電気エネルギーを利用し大気中CO2を植物の50 倍以上の効率 (1 m2あたり年間50 kgの大気CO2を吸収)で有用有機物に変換
- ■PJ達成目標(2022年度):「電気利用CO2固定微生物の人工合成」と「気相反応リアクターの構築」を実現し本技術の実証可能性を明確に示すこと

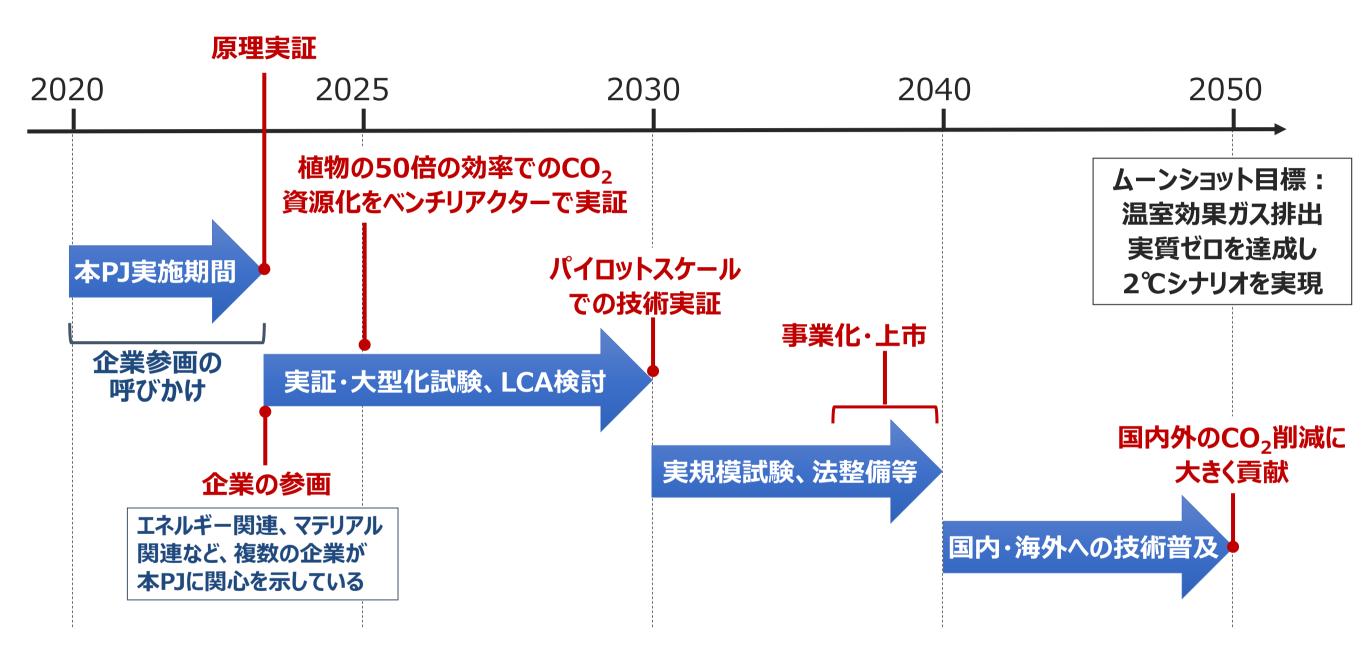


社会実装のイメージ



- *大気中CO2の削減(排ガス由来等、高濃度CO2も可能)
- *再生可能エネルギー由来の電力を利用(夜間余剰電力含む)
- *バイオプラスチック・燃料の新規供給源

開発スケジュール



- ■年間50万トンのCO2固定を実現:ネガティブエミッション目標値の3%程度に貢献
- ■年間21万トンの有機物生産を実現:国内バイオプラ・燃料生産の10%程度に貢献

研究開発項目·実施体制

■PJ達成目標(2022年度): 気相反応リアクターを使用し微生物による電気利用CO2固定の実証可能性を示す

プロジェクト統括・合成微生物創出(産総研・加藤)

- ①ゲノム操作技術の開発
 - ·長鎖DNA導入技術
 - ・プロモーターライブラリ

②-4. 電力利用CO₂固定微生物の作製

電気利用菌、低濃度CO₂固定菌、 電気利用・低濃度CO₂固定菌など随時作製







要素技術開発

- ②-1. 電気利用能の付与 (東工大·福居)
- ②-2. CO₂取込み・濃縮能の付与 (神戸大・蘆田)
- ②-3. CO₂固定能の強化 (東工大・藤島)

気相リアクター開発

- ③-1. 気相反応バイオリアクターの構築 (名古屋大・堀)
- ③-2. バイオ-ガス拡散電極の構築 (大阪大・中西)

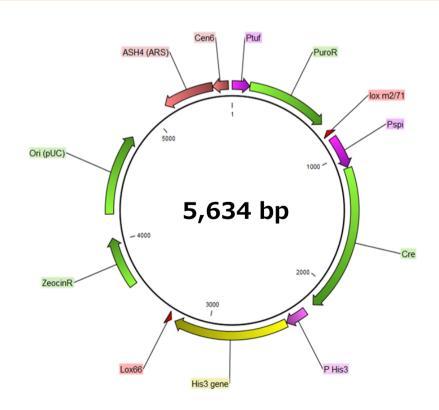
1. ゲノム操作技術の開発 (産総研)

- ■本PJでの目標:Ralstoniaの長鎖DNA導入技術を含むゲノム操作基盤技術の構築
- * Ralstoniaへの長鎖DNA導入技術の開発

目的:多数の遺伝子群をゲノムに導入可能な遺伝子操作方法の開発

成果:

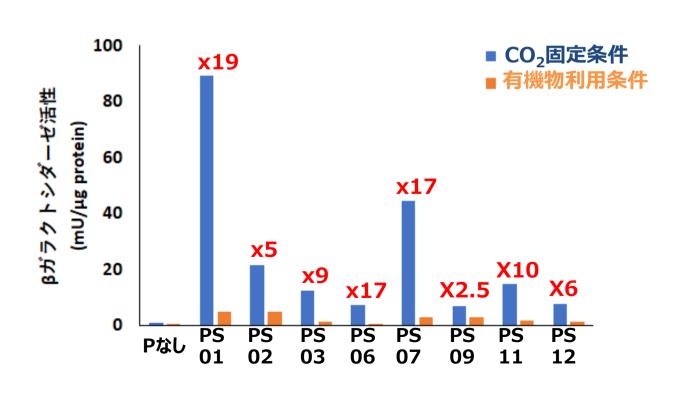
- ・酵母人工染色体をベースに長鎖DNA導入ベクター をデザイン
- ・ゲノムへの遺伝子導入法(CreLoxP法)を Ralstoniaに初めて導入



*プロモーターライブラリの開発

目的:導入した遺伝子を適切量発現させるのに必要な プロモーターを複数獲得

- ·CO。固定条件での網羅的遺伝子発現解析
- ・比色法による簡便なプロモーター活性評価系を構築
- ・CO2固定条件下で特異的に機能するプロモーターを 8種、恒常発現プロモーター3種を特定



2-1. 電気利用能の付与(東工大)

- ■本PJでの目標:Ralstoniaに異種微生物の電子伝達パスを導入し電流消費活性を付与する
- *Acidithiobacillus由来電子伝達パスの導入

目的:Ralstoniaに異種微生物の電子伝達パス遺 伝子を導入

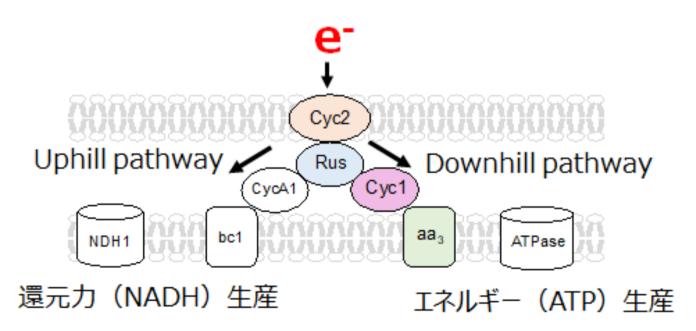
成果:

- ・Uphill経路のみ、Up/Downhill経路双方を 導入した株を作製
- ・導入した遺伝子群の発現をRNAレベル、タンパクレベルで確認

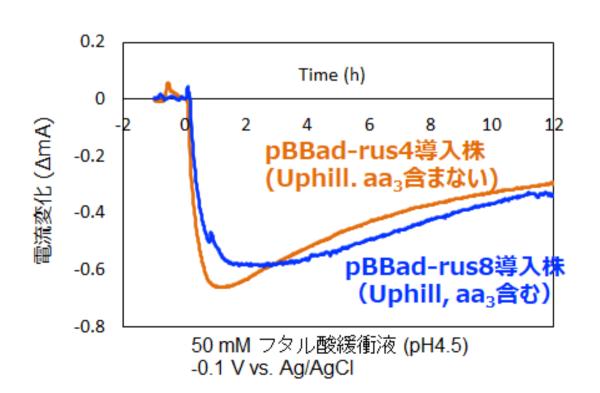
*導入株の電気化学測定

目的:電子伝達パス遺伝子の導入により電気利用能が付与されているかを確認

- ·Uphill経路導入株で明確な電流消費活性を確認
- ·Up/Downhill経路導入株の電流消費活性、CO₂ 固定活性を現在確認中







2-2. CO₂取込み・濃縮能の付与(神戸大)

- ■本PJでの目標: Ralstoniaに異種生物のCO。固定酵素・濃縮系を導入し活性を付与する
- *シアノバクテリア由来COっ濃縮系の導入

目的:シアノバクテリア等が持つCO。濃縮系を

Ralstoniaで発現させ能力を付与する

成果:

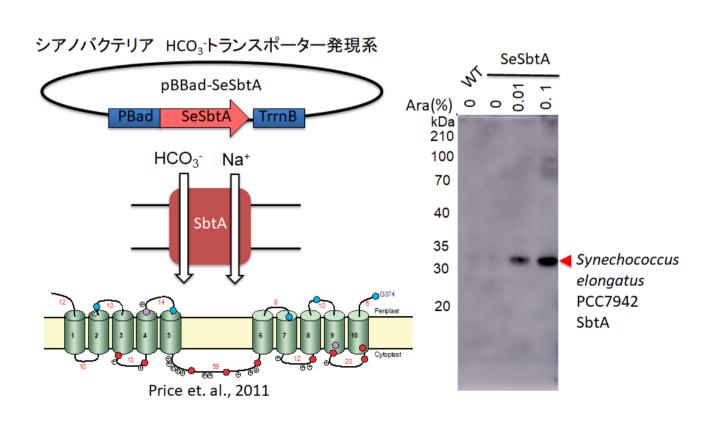
- ・シアノバクテリアの炭酸塩輸送タンパクを Ralstoniaで発現させることに成功
- ・導入株のCO。取込み活性を確認中

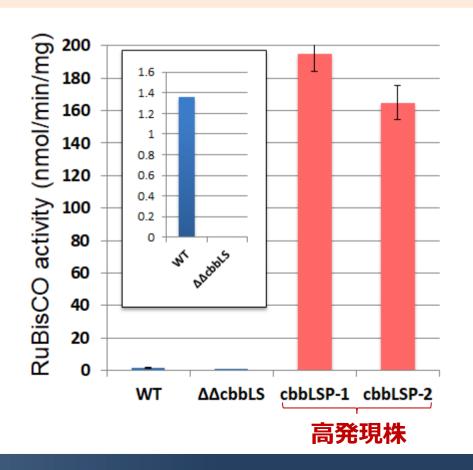
*CO₂固定酵素の発現強化

目的:内在性・外来性のCO2固定酵素(RuBisCO)

の高発現によりCO。固定能を強化する

- ・内在性のRuBisCOの高発現によりCO2固定活性、 生育が向上することを実証
- ・より活性の高い外来性RuBisCOも検討中





2-3. CO₂固定能の強化(東工大)

- ■本PJでの目標:半人工CO2固定経路の導入によりRalstoniaのCO2固定能を強化する
- *半人工CO。固定経路のデザイン・導入

目的: Ralastoniaに外来のCO2固定酵素などを 導入し半人工CO2固定経路を機能させる

成果:

- ·4遺伝子の導入により機能する半人工CO2固定 経路(Em-rTCA回路)をデザイン
- ・経路導入株を作製し、半人工経路によるCO2固定 を同位体実験により確認

大工 Em-TCA回路

和用物質主度

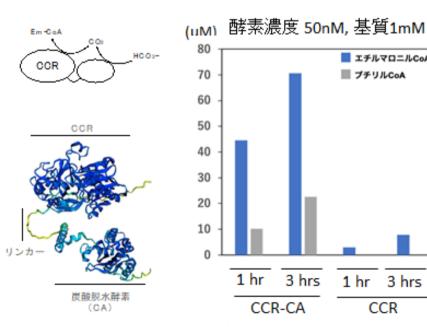
カルビンサイクル

「Bully manager CoA action of CoA action

*CO₂固定酵素の機能強化

目的:Em-rTCA経路における2種のCO₂固定酵素 を改変し経路全体を強化する

- ·CO₂固定酵素CCRを炭酸脱水素酵素と融合させることで低濃度CO₂条件での活性向上に成功
- ・CO₂固定酵素PCCを異種微生物由来酵素とのドメイン融合型にすることで活性向上に成功



CCR-CA融合タンパク質 (CCR_CA)

大気CO2下で天然のCCRよりも 人工的に作成したCCR-CA融合タ ンパク質が高い活性を示した

3. 気相反応リアクターの構築(名大・阪大)1

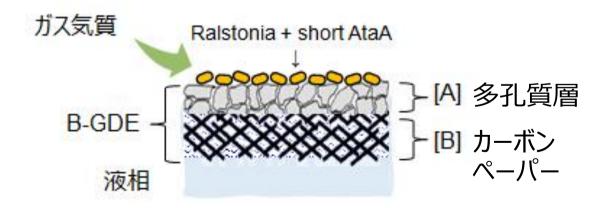
- ■本PJでの目標:気相反応バイオプロセスを確立しRalstoniaのCO2固定速度を向上させる
- *バイオ・ガス拡散電極の開発

目的:Ralstoniaに電気·気体(CO₂)·液体

(栄養分)を供給可能な電極を開発

成果:

- ・燃料電池などに使用されているガス拡散電極を ベースとしバイオ反応向けに改良
- ·多孔質層の樹脂・炭素粉末混合比の調整などにより適度なガス・液体拡散性を実現



[A]: Applied microporous layer (MPL) (Ketjen Black (KB) + PVDF)
[B]: Backing paper (Toray carbon paper + 5% PTFE)

バイオガス拡散電極 Gas diffusion bio-electrode (B-GDE)

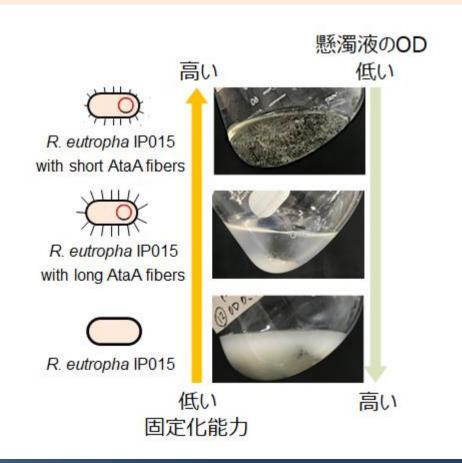
* Ralstoniaの電極付着性向上

目的:接着性繊維の導入によりRalstoniaの電極付

着性を向上させる

成果:

·Acinetobacter由来の接着性繊維タンパク (Ata)の導入によりRalstoniaの固体付着性を 大幅に向上



3. 気相反応リアクターの構築(名大・阪大)2

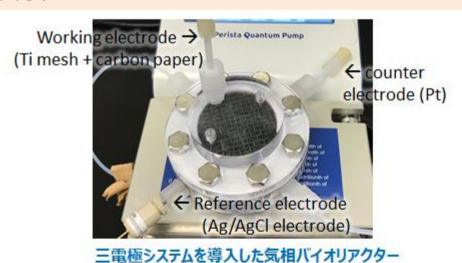
■本PJでの目標:気相反応バイオプロセスを確立しRalstoniaのCO2固定速度を向上させる

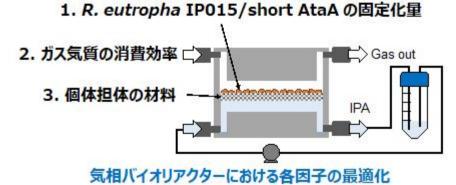
*気相反応リアクターの開発

目的: Ralstoniaに電気・気体(CO₂)・液体 (栄養分)を供給可能なリアクターを開発

成果:

・目的とする反応が可能なリアクターをデザインし 作製した





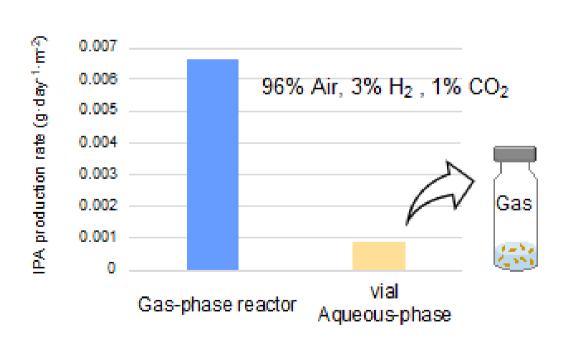
*気相反応リアクターの優位性の実証

目的:気相反応リアクターによりRalstoniaのCO₂

固定速度を向上可能であることを実証

成果:

・水素とCO2からのイソプロパノール生産速度が液相 反応と比較し大幅に向上可能であることが示された



気相反応と液相反応におけるIPA合成の比較

最終目標達成に向けて

■PJ達成目標(2022年度):「電気利用CO2固定微生物の人工合成」と「気相反応リアクターの構築」を実現し本技術の実証可能性を明確に示すこと

