

光駆動エネルギー再生型 スマートセル作製技術

静岡県立大学 食品栄養科学部
環境工学研究室
准教授 原 清敬

2019年10月29日

従来技術とその問題点

既に実用化されているものには、米国ベンチャー企業Amyris社による細胞内エネルギー節約法等があるが、基礎代謝エネルギーの低下に起因する細胞量の低下が発生。

節約できるエネルギー量に制限がある等の問題があり、広く利用されるまでには至っていない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、有用物質を生産する細胞内のエネルギー状態を改良することに成功した。
- 従来は細胞内エネルギー消費の少ない物質製造への使用に限られていたが、細胞内エネルギーを向上できたため、様々な有用物質の生産に利用することが可能となった。
- 本技術の適用により、有用物質の生産性が向上できるため、製造コストが $2/3 \sim 1/3$ 程度まで削減されることが期待される。

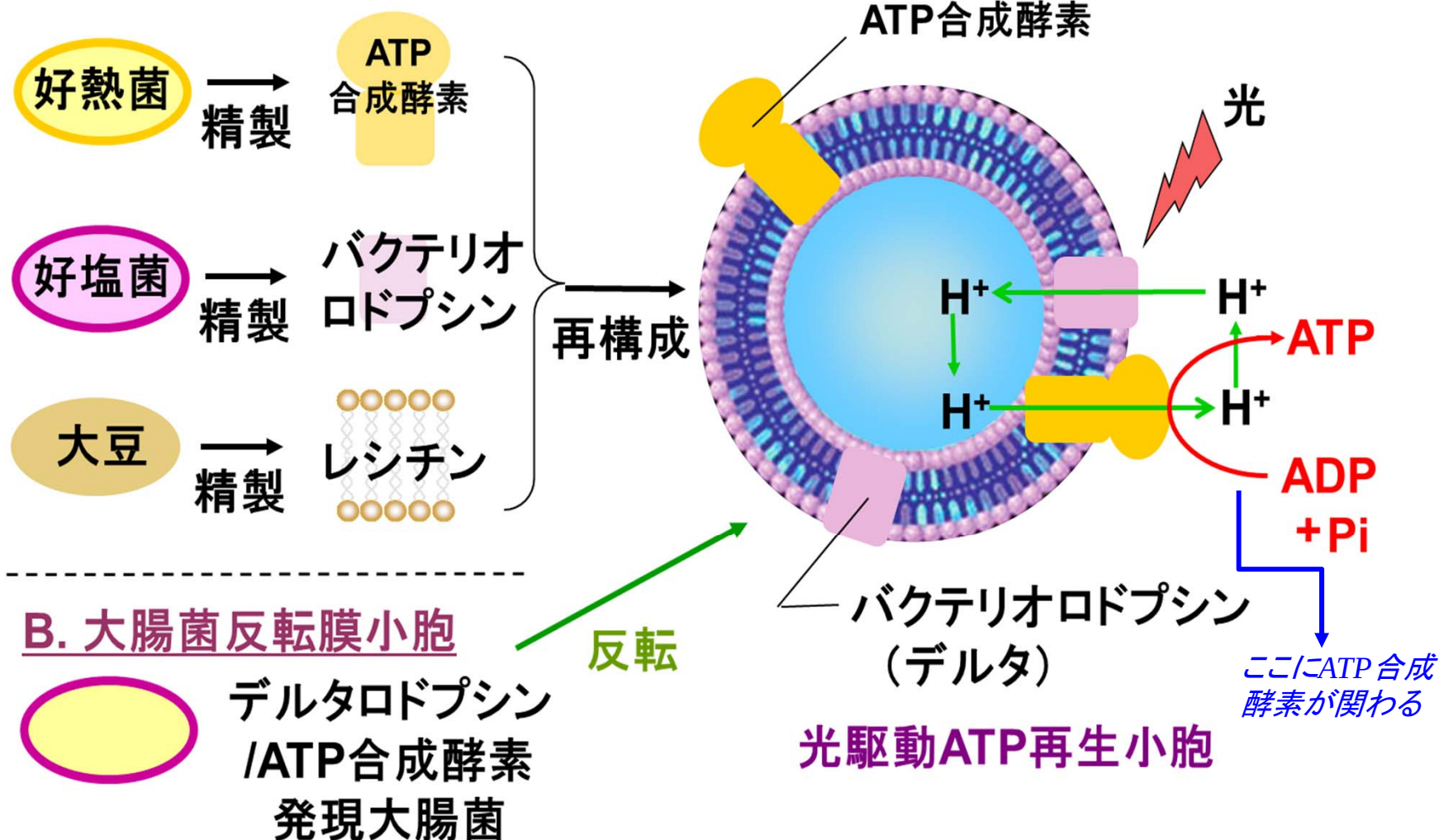
発明の背景と着想

光のエネルギーを利用する新発想

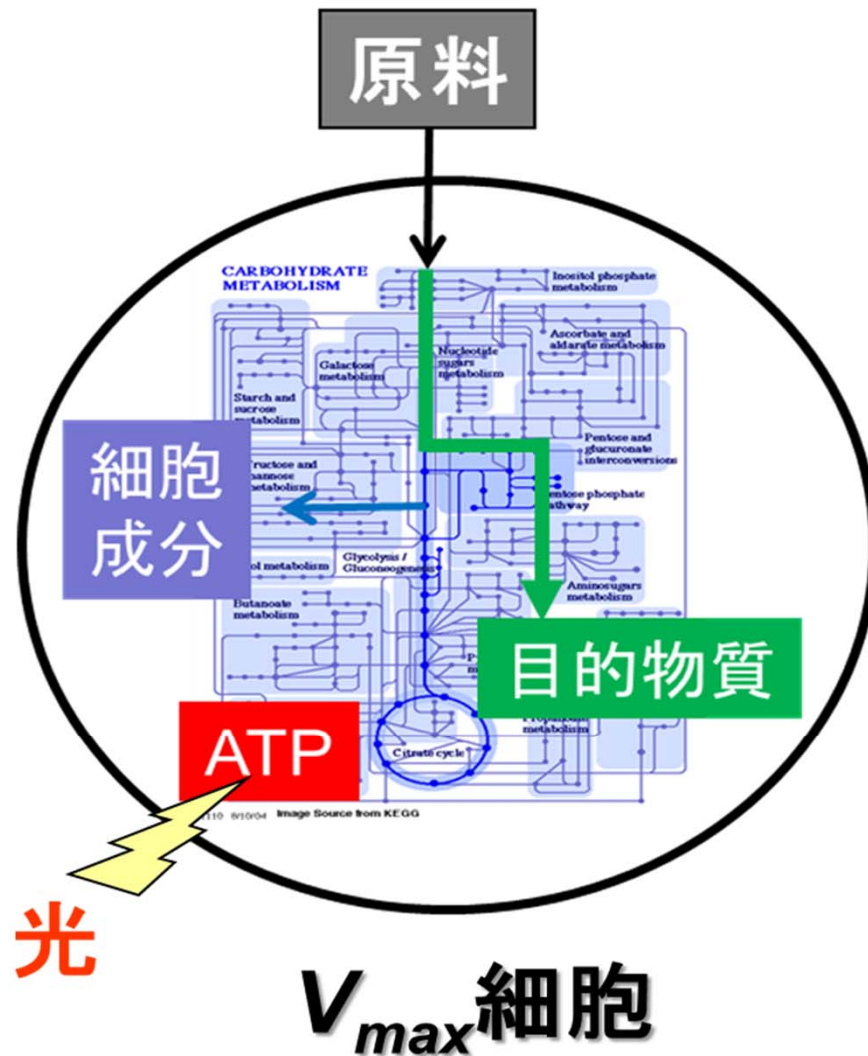
◆ 発明者の過去の研究

光によるATP合成酵素のATP再生活性の測定を主目的にバクテリオロドプシンを用いた膜小胞の再構成を実施

A. タンパク質再構成膜小胞



発酵のジレンマの解決(発酵のエネルギー革命)



目的物質生産性の強化

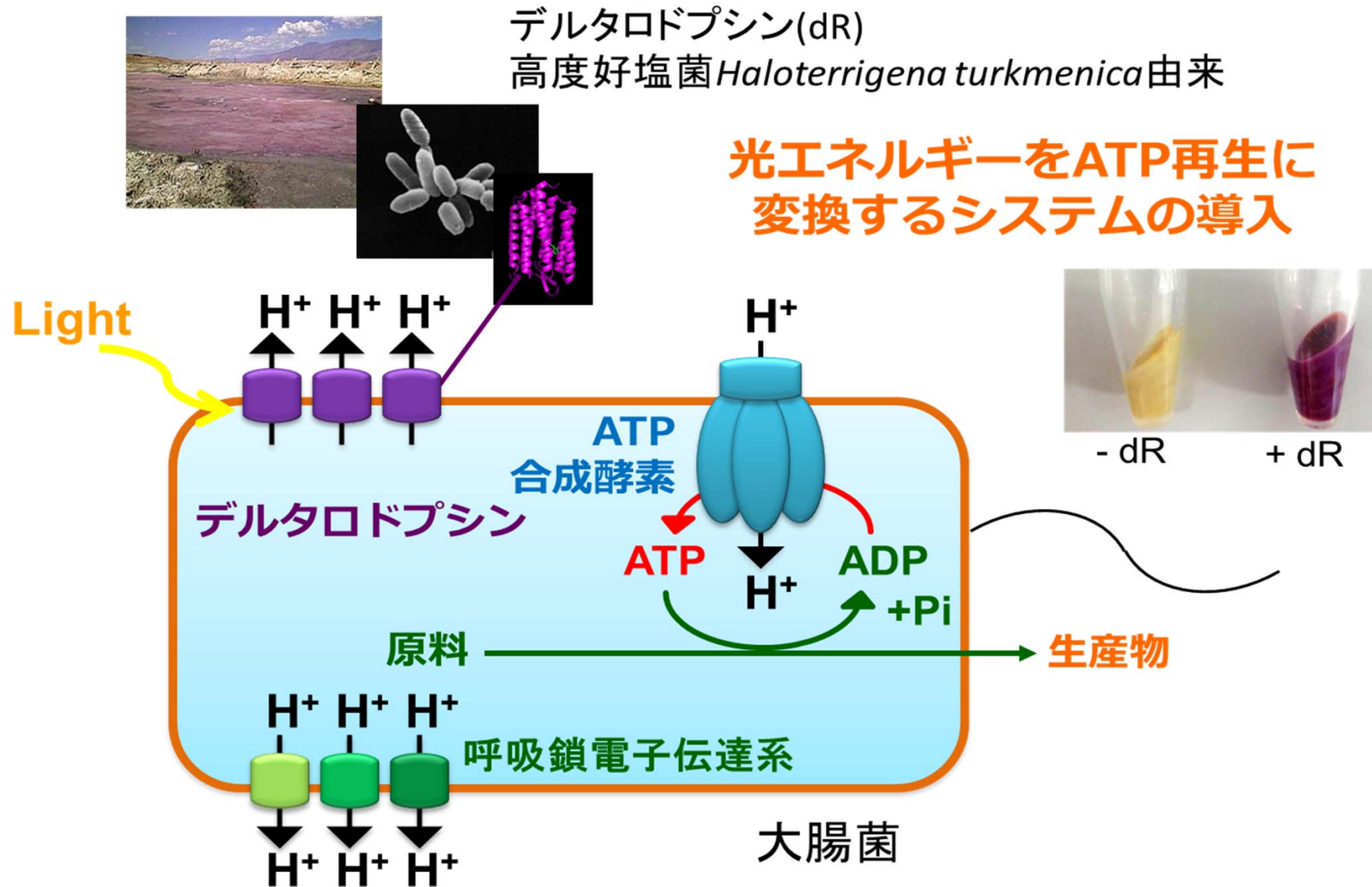


細胞内エネルギーの不足

- 目的物質生産性の頭打ち
- 生育の低下
- ストレス耐性の低下

光エネルギー利用能の付与による光駆動エネルギー再生

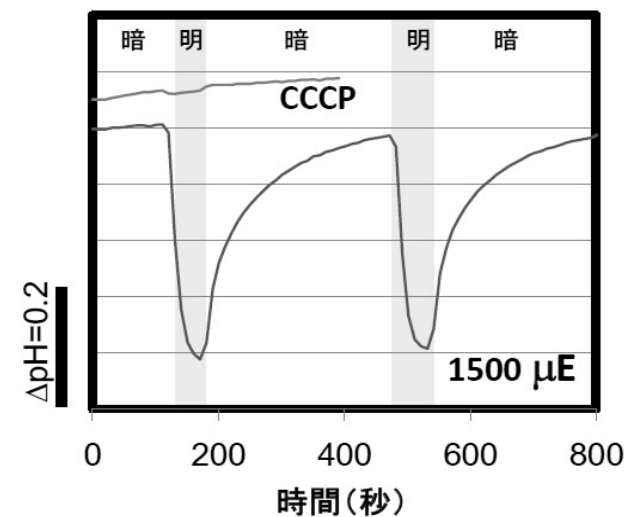
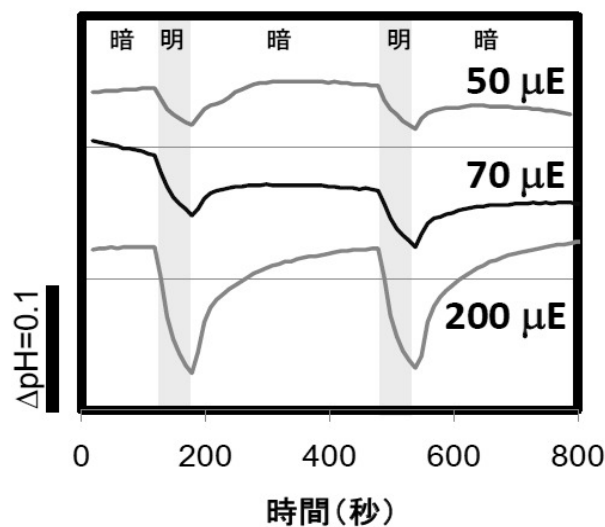
光駆動ATP再生系を用いた V_{max} 細胞の創製



光エネルギーを用いてATPを再生する V_{max} 細胞の創製

デルタロドプシンの機能性の確認 (光駆動プロトン輸送活性の測定)

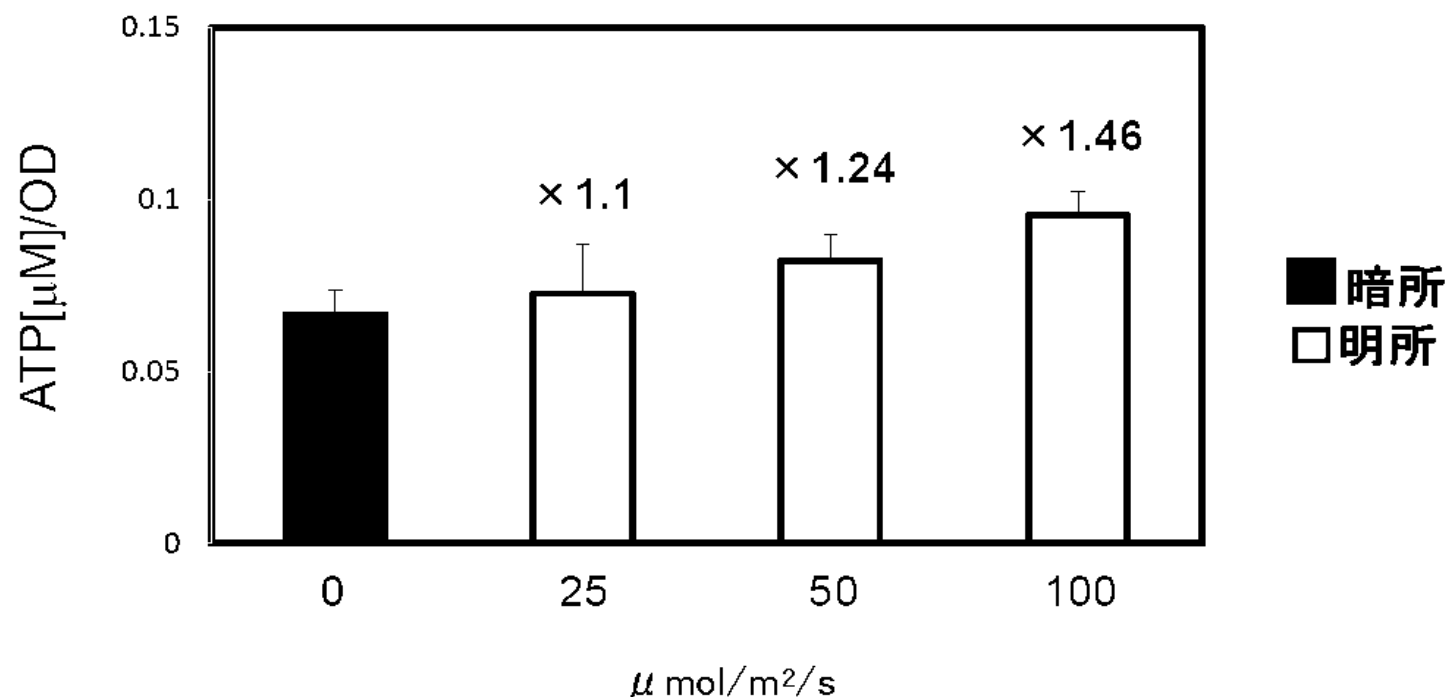
光量 (μE)	pH減少速度 ($\Delta\text{pH}/\text{min}$)
50	0.042
70	0.060
200	0.138
1500	1.80



光の強度にしたがってpHが減少し、脱共役剤CCCPの添加でpH変化の応答がなくなった。

大腸菌に発現させたデルタロドプシンの光依存的なプロトン輸送を確認した

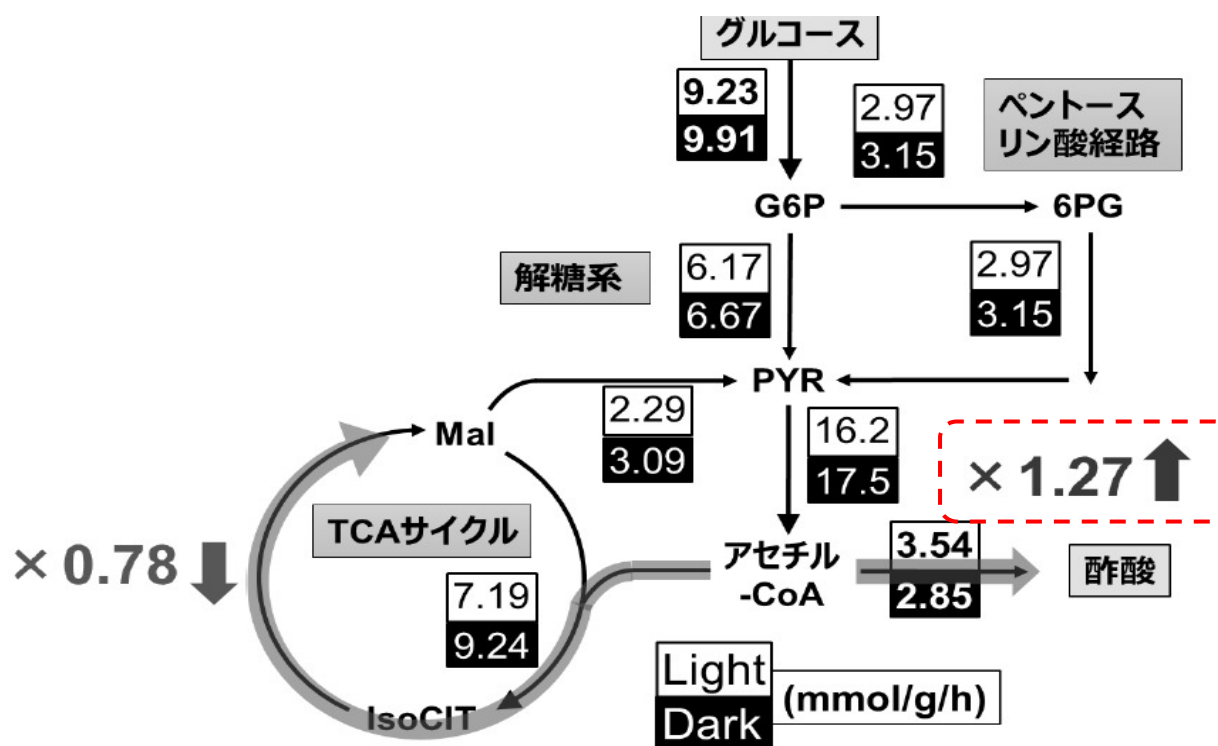
デルタロドプシンの機能性の確認 (細胞内ATP濃度の測定)



大腸菌に発現させたデルタロドプシンの光依存的なATP増加を確認した

光照射 (光量 $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) と暗所での菌体培養液 $\Rightarrow$ 上清中の代謝産物をHPLCで測定

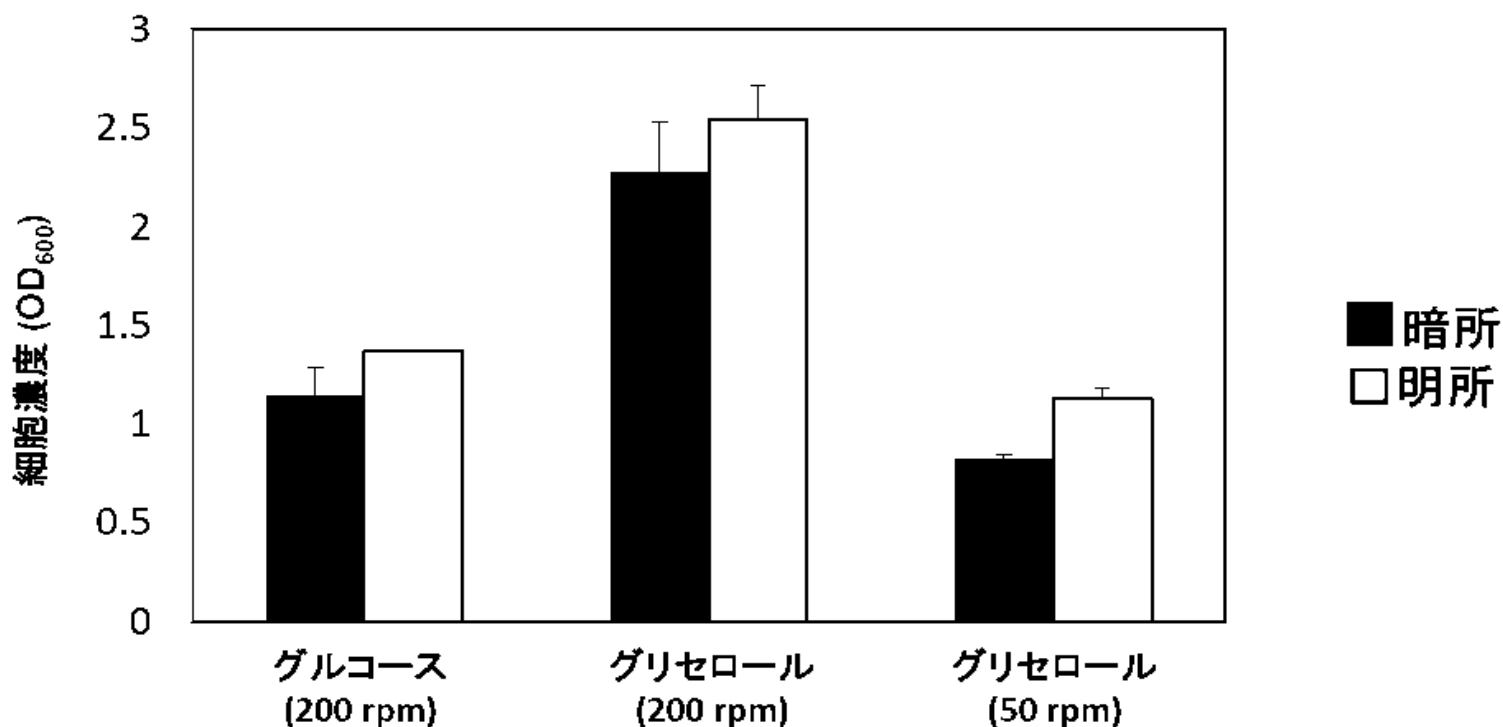
比速度			
	増殖 (h ⁻¹)	グルコース消費 (mmol/gDCW・h)	酢酸産生 (mmol/gDCW・h)
明所	0.47 ± 0.02	9.23 ± 0.15	3.54 ± 0.07
暗所	0.47 ± 0.00	9.91 ± 0.69	2.85 ± 0.29



グルコースの消費は両者で変わらず。光照射培養ではアセチル-CoAからTCAサイクルへの炭素流入量が減少し、酢酸の生産量が約1.3倍に増加した。

形質転換大腸菌によるグルタチオンの産生 (菌体の濃度)

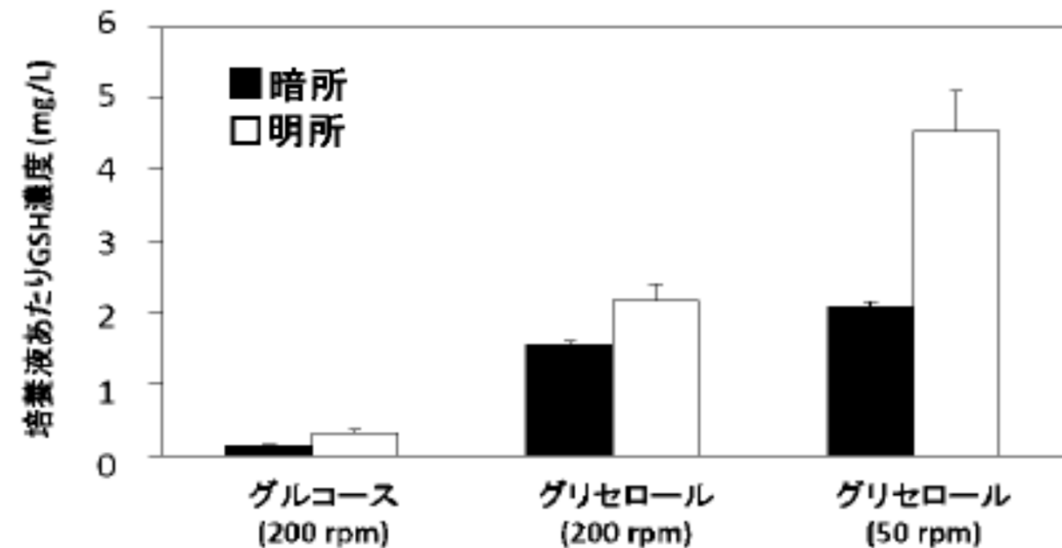
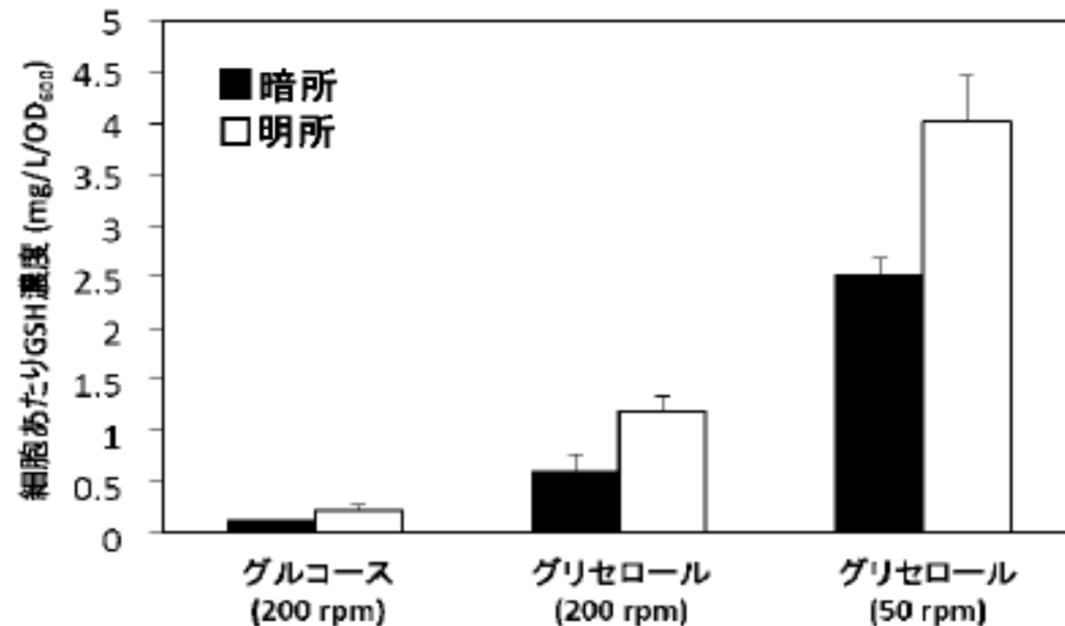
光照射(光量 $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、または暗所(光量 $0.02 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下)
好氣的培養:200rpm、または嫌氣的培養:50rpm
培養時間 24hr



炭素源の種類、明所／暗所、好氣的／嫌氣的を問わず、
光照射培養の方が菌の生育が良かった。

形質転換大腸菌によるグルタチオンの産生 (グルタチオンの測定)

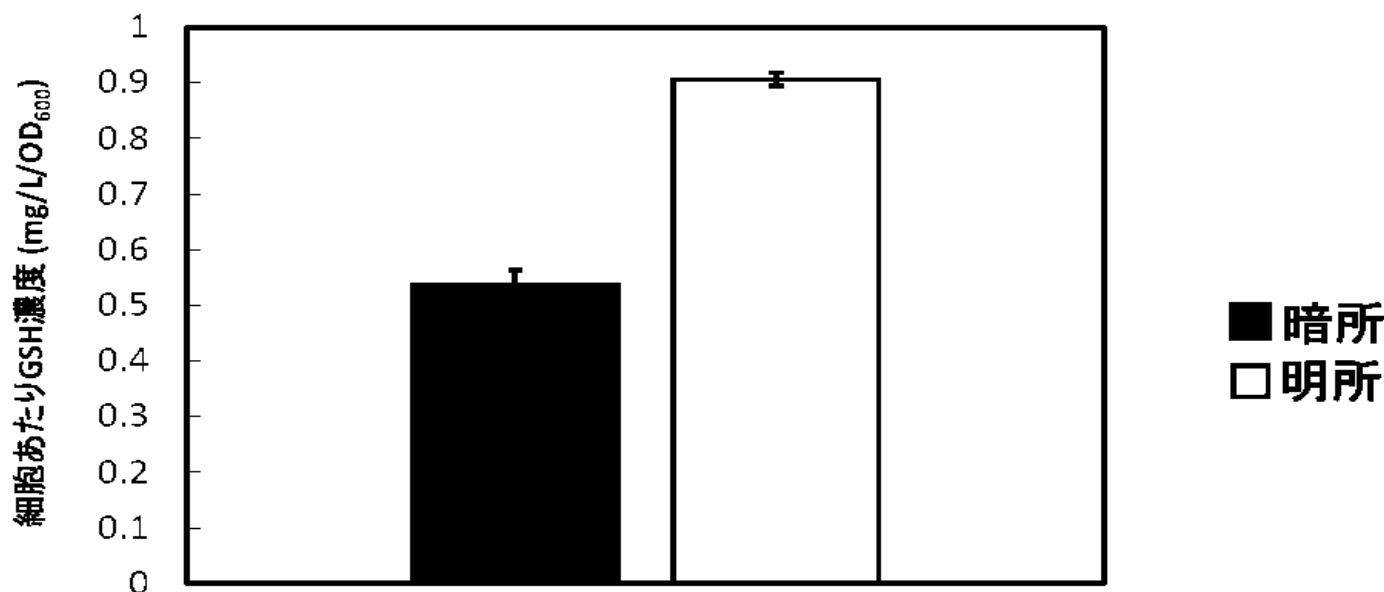
24hr培養した菌体を破砕し、市販のGSH測定キット(DTNBによる呈色反応)で測定



細胞当たりの産生量も、前ページの菌体量を考慮した培養液当たりの産生量も、光照射の嫌気条件下でのグリセロール添加培養で産生量が顕著に増加

プロテオロドプシンの導入によるグルタチオンの産生

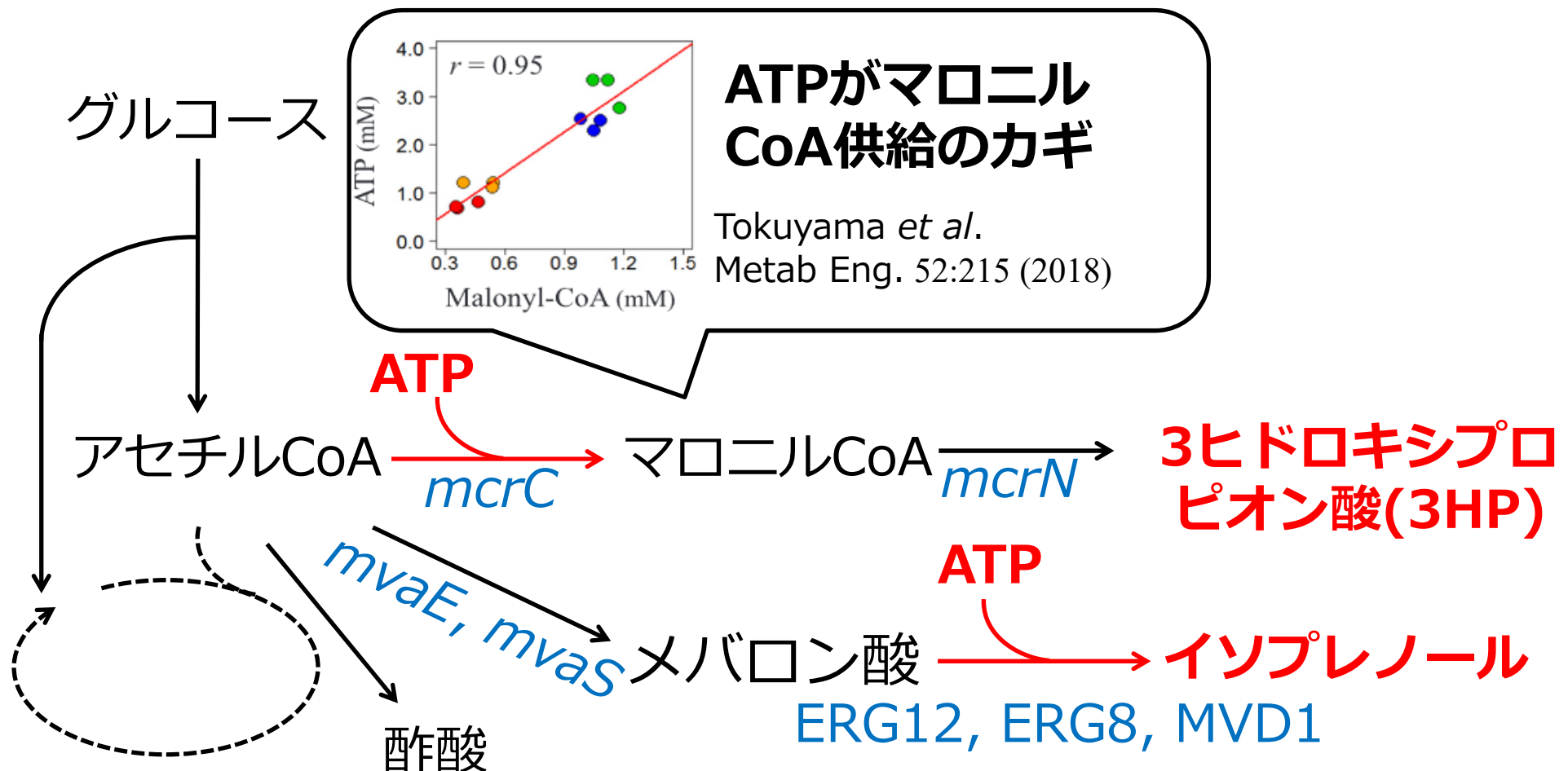
グルタチオンの測定法は前ページに同じ



プロテオロドプシンもデルタロドプシンと同様に、
大腸菌の光依存的なグルタチオン産生量の増加を確認

その他の有用化合物の生産

- ロドプシンによるATP再生力を生合成の駆動力に利用可能な様々な有用化合物の合成大腸菌株を構築



様々なロドプシンの比較

2000～3000種も知られるロドプシンを系統樹的に分類し、各グループの代表例について機能を比較



想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、ATPエネルギーを利用する物質の製造に適用することで生産性の向上のメリットが大きいと考えられる。
- 上記以外に、通気量の低減、攪拌電力の削減効果が得られることも期待される。
- また、達成された有用物質に着目すると、医薬品、化粧品、食品や生分解性プラスチックといった素材・材料分野や用途に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題

- 現在、複数の有用物質について大腸菌または出芽酵母による生産が可能のところまで開発済み。
- 今後、他の細胞や有用物質について実験データを取得し、様々な細胞や有用物質に適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、実証のスケールを10Lまで向上できるように技術を確立する必要もあり。

モデルとなる既存光培養技術：ヘマトコッカス藻によるアスタキサンチン生産



(株) アルビータのハウス型培養槽



富士化学工業（株）のドーム型培養槽



Algatech社のガラス管型培養槽



富士化学工業（株）のフォトリアクター

Algal Research 19 (2016) 253–263



Contents lists available at ScienceDirect

Algal Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/algal



Techno-economic analysis of microalgal biomass production in a 1-ha Green Wall Panel (GWP®) plant



Mario R. Tredici^{a,*}, Liliana Rodolfi^{a,b}, Natascia Biondi^a, Niccolò Bassi^b, Giacomo Sampietro^b

^a Department of Agrifood Production and Environmental Sciences, University of Florence, Piazzale delle Cascine 24, 50144 Florence, Italy

^b Fotosintetica & Microbiologica S.r.l, Via dei Della Robbia 54, 50132 Florence, Italy



安価なソフトプラスチック(LDPE)を利用した微細藻類屋外培養設備(=フォトバイオリアクター)の技術経済試算に関する論文。

培養コスト

500～1,900円/kg (DCW)

<https://modia.jp/articles/18/>

企業への期待

- 有用物質の微生物または細胞生産を行ってることが目的物質の生産性（速度、収率）の向上に伸び悩んでいる企業様との共同研究を希望。
- これから発酵・バイオ生産分野への展開を考えている企業様には、本技術の導入が有効と思われる。
- 光培養の技術をお持ちの企業様との共同研究を希望。

本技術に関する知的財産権

発明の名称：光駆動高エネルギー
サッカロミセス亜門酵母の
作製方法

特許番号：特許第6507152号

出願人：静岡県公立大学法人

発明者：原清敬、叶暁亭、近藤昭彦

本技術に関する知的財産権

発明の名称：発酵プロセス利用による
有用物質の製造方法

出願番号： PCT/JP2019/ 33690

出願人： 静岡県公立大学法人

発明者： 原清敬、原陽子、戸谷吉博、
松田史生、鎌田健太郎、
田中涼

産学連携の経歴

- 2003年-2006年 協和発酵工業(株)に勤務
- 2009年-2015年 化学系企業と共同研究実施
- 2017年-2018年 JST社会還元加速プログラムに採択
- 2017年- JST未来社会創造事業に採択
- 2019年- 本成果を活用し「(株)396バイオ設立」
大学発ベンチャーの称号認定申請中

お問い合わせ先

- ・ **研究内容に関して**

静岡県立大学 食品栄養科学部
環境工学研究室 准教授 原清敬

TEL : 054-264-5659

E-mail : k-hara@u-shizuoka-ken.ac.jp

- ・ **特許・契約に関して**

静岡県立大学 教育研究推進部 地域・産学連携推進室
鈴木 美帆子 (産学官連携コーディネーター)

TEL : 054-264-5124

E-mail : renkei2@u-shizuoka-ken.ac.jp