

【3K123008】微生物を利用した地域バイオマスキノコ廃菌床からの化学工業原料生産システムの開発 (H24~H26; 累計予算額 41,156 千円)

高久 洋暁 (新潟薬科大学)

## 1. 研究開発目的

低炭素技術の原料となるバイオマスは、環境条件による年次変動、季節変動、世界情勢問題を克服できる安定供給性を持ち、さらに食糧自給率の低い日本では食料と非競合でなければならない。このような背景を考慮し、本研究では、新潟県の全国2位のキノコ生産量を支える(株)雪国まいたけの廃菌床を地域バイオマスとして利用する。廃菌床は、セルロース、ヘミセルロースを多く含み、年間を通じて230 t/日(13万 t/年)一定に排出・集積されているので、今の日本で事業化に直結できる最有力の非可食バイオマスである。この廃菌床を、①マイタケ菌の生物的前処理能力を最大限強化し、高効率な前処理プロセスを構築する。前処理産物をセルロース高分解微生物トリコデルマ・リーセイの改良・利用で、リグニン、セルロース、ヘミセルロースを同時分解してグルコース、キシロースを生成する。前処理、酵素糖化の全てがバイオプロセスで構築され、従来の物理的、化学的前処理より設備投資、排水処理、エネルギーコスト的に有利な環境低負荷型のオールバイオプロセス糖生産システムを構築する。②得られたグルコースは、代謝工学的に改変された組換え大腸菌によりほぼ100%効率で化学工業原料中間体の2-デオキシシロ-イノソース(DOI)に変換し、キシロースはその組換え大腸菌の生育炭素源として利用する。すなわち、セルロース、ヘミセルロース画分から得られた糖は、無駄なく利用される。

本研究は、上記目的を達成するために、大きく2つの研究項目(1)環境低負荷型糖生産システムの開発(オールバイオプロセス)、(2)廃菌床糖化溶液からのDOI発酵高生産組換え大腸菌の開発で構成される。また、本研究は、非可食バイオマスから今まで石油から生産されていた付加価値の高い化成品原料を生産する技術であり、石油リファイナリーからバイオリファイナリーへのパラダイムシフトによる持続型低炭素社会の構築、地球環境問題に貢献することができる。

## 2. 本研究により得られた主な成果

### (1) 科学的意義

報告例が数少ないマイタケ菌のゲノム情報だけでなく、マイクロアレイ解析によりマイタケ菌のリグニン分解機構が遺伝子レベルで推察された。さらにそのリグニン分解が生物学的前処理の主要な部分であることが判明し、糖化率向上への重要項目であることから、同定されたマイタケ菌のリグニン分解遺伝子を導入したセルロースとリグニン分解酵素産出組換えトリコデルマ株を構築した。また、糖環化酵素のDOI合成酵素の活性を上昇させる部位をはじめで見出した。糖環化酵素の立体構造糖の報告例はあるが、高活性部位の報告は初であることから、科学的意義は非常に高く、構造が解かれているので、研究は飛躍的に発展すると考えている。さらに、その酵素と培養工学的技術(流加培養法)を利活用してDOI高発酵生産法(116 g/L/60h)を確立した。また、高濃度のDOIの蓄積は、宿主大腸菌の増殖を阻害することを見出し、DOI耐性株及び超感受性株を取得し、DOI感受性に関与する遺伝子として、*argO*, *rffC*, *gor*の3つの遺伝子を同定した。DOIへの感受性に関する報告は世界初である。

### (2) 得られた成果の実用化

リグニンの存在が糖化率へ大きな影響をきたすことを見出し、廃菌床のリグニン除去を効率的に行う事により(アルカリ処理)、実用化へ向けた目標値である糖化率80%を達成した。試薬レベルのDOIの発酵生産は、①高活性型DOI合成酵素W293Rの取得・活用、②流加培養法を組み合わせることにより、116.0 g/L/60hを記録し、培養液中のDOI濃度は、100 g/L以上を示し、実用性への道が開けた。しかしながら、廃菌床由来糖化液からのDOI発酵生産は、糖化液中の発酵阻

害物質の影響により生産効率が大きく減少したことから、糖化液の膜による濃縮及び発酵阻害物質除去のステップを設けることにより、試薬レベルの生産効率へ近づけることができ、実用化ができると考えている。

### (3) 社会への貢献の見込み

本研究の生産物質の DOI は、種々の医薬品、農薬、化粧品等の出発原料になる物質であり、特に簡単に 2 価フェノール（酸化防止剤、接着剤、美白剤原料）に合成変換できるので付加価値が高い物質である。また、本技術でこれまで石油から得てきた 2 価フェノールなどの芳香族化合物を非可食バイオマスから得ることが可能なため、人類の生存基盤に関わる化石資源由来の様々な環境問題を解決することができる。廃棄物問題を引き起こしているキノコ廃菌床、バイオディーゼル製造時に産出される廃グリセロールを原料として、有用な化成品合成へ繋げる本バイオリファイナリー技術は、地球温暖化防止に大きく貢献できる。また、キノコ廃菌床という地域社会の廃棄物問題の解決へ向けた大きな貢献でもある。

### 3. 委員の指摘及び提言概要

バイオリファイナリーのモデルケースとなりうると考えられるが、実際のサンプルを使用したデータが不足である。研究計画どおりの進展が実現すると、環境政策に大きく貢献すると考えられるが、実用化には阻害物質除去などの技術開発が解決される必要があるなど、実用化の視点から見れば高い評価を与えられない。また、実験結果等が詳しく報告されているが、循環型社会形成推進とどう結びつくのか不明確である。

### 4. 評点

総合評点： B