

令和 6 年 5 月 15 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K11713

研究課題名(和文) バイオディーゼル燃料の新奇大量生産系の開発

研究課題名(英文) Development of a novel mass production system for biodiesel fuel

研究代表者

寺本 真紀 (Teramoto, Maki)

高知大学・教育研究部総合科学系複合領域科学部門・准教授

研究者番号：60545234

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：A株のワックス(エステル)合成遺伝子は同定できた。しかし、大腸菌をエタノール存在下で培養するだけで、脂肪酸エチルエステルが生産された。A株の脂肪族化合物の生産は、20度よりも28度で顕著に生産されることを明らかにした。引き続き解析を続ける。1-テトラデカノールを高生産するこれまでにない菌株を数株取得することに成功した。C10の脂肪酸を主生産するこれまでにない菌株を3株取得することに成功した。分岐脂肪酸、シクロプロパン脂肪酸を主生産する菌を2株ずつ獲得することにも成功した。-デカラクトンを生産するこれまでにない菌を発見した。DHA、ファルネシルアセトン、コハク酸の生産菌も発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

A株の脂肪酸メチルエステルや脂肪酸エチルエステルの生産は、エステル合成遺伝子よりもメタノールやエタノール合成遺伝子が重要であると考えられた。1-テトラデカノールは、報告者が以前発見した1-ヘキサデカノールよりも良いそのまま使える燃料になると考えられる。C10の脂肪酸は、水素化(脱酸素)のみで、ガソリン・ジェット燃料・ディーゼル燃料、と全ての原油系燃料になる炭化水素になる。分岐脂肪酸や環状脂肪酸(特にシクロプロパン脂肪酸)は燃料生産に有用である。

-デカラクトンやファルネシルアセトンは、構造から細菌界でシグナル物質として作用する可能性があり、DHAやコハク酸は食品として役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The wax (ester) synthesis gene of strain A was identified. However, fatty acid ethyl esters were produced simply by culturing E. coli in the presence of ethanol. It was revealed that aliphatic compounds were more pronouncedly produced by strain A at 28 degrees than at 20 degrees. The analysis will be continued. We succeeded in obtaining several bacterial strains that produce high amounts of 1-tetradecanol and three bacterial strains that primarily produce C10 fatty acids, which have not been reported so far. We also succeeded in obtaining bacteria that primarily produce methylated fatty acids (2 strains) or cyclopropane fatty acids (2 strains). We have discovered an unprecedented bacterium that produces -decalactone. We also discovered bacteria that produce DHA, farnesylacetone, and succinic acid.

研究分野：微生物学

キーワード：原油系燃料

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者は、バイオディーゼル燃料として利用できる脂肪酸化合物を生産する新奇新属細菌の獲得に成功した。この細菌を利用すれば、従来のバイオディーゼル燃料の製造に必要な油脂のメチルエステル化工程などを行なうことなく、効率的にバイオディーゼル燃料を高生産することが可能になる。そこで、本研究では、この新奇新属細菌から、バイオディーゼル燃料として利用できる脂肪酸化合物を合成する遺伝子群を同定し、同定した遺伝子群を用いて、食料と競合しないバイオマスやCO₂を炭素源に、バイオディーゼル燃料を大量生産する微生物の系の確立を目指す。

2. 研究の目的

食料と競合しないバイオマスやCO₂を炭素源に、バイオディーゼル燃料を大量生産する微生物の系の確立を目指す。

3. 研究の方法

まず、新奇細菌 (A 株) からディーゼル燃料として利用できる脂肪酸化合物の合成遺伝子群を同定することを予定していた。この合成に必要なワックス (エステル) 合成遺伝子は同定できたが、エタノール合成遺伝子の同定は研究期間内では出来なかった。さらに、ディーゼル燃料として利用できる脂肪酸化合物の A 株による生産の再現が、培養条件を少しずつ変えてみたりしたが、出来なかった。そこで、新たなディーゼル燃料生産菌を、GC-MS を用いて探索し、ディーゼル燃料となる C14 脂肪酸アルコール (1-テトラデカノール) を高生産する菌を数株獲得することに成功した。また、ガソリン、ジェット燃料、ディーゼル燃料、と全ての原油系燃料になる C10 程度の脂肪酸化合物を高生産する菌は、これまで知られていなかったが、GC-MS を用いて探索し、C10 脂肪酸を高生産する菌を 3 株獲得することに成功した。

※C は炭素数で、C14 は炭素骨格の主鎖の炭素数が 14 という意味。

4. 研究成果

A 株のワックス (エステル) 合成遺伝子は大腸菌に導入して同定できた。しかし、形質転換していない大腸菌をエタノール存在下でただ培養するだけで、A 株が生産するディーゼル燃料が生産されたため、A 株によるディーゼル燃料の生産は、エステル合成遺伝子よりもメタノールやエタノール合成遺伝子の方が重要であると考えられた。そこで、A 株のエタノール合成遺伝子を同定するため、A 株からエタノール合成遺伝子を推定しこれを大腸菌で発現させたところ、大腸菌の増殖が顕著に抑制された。この推定した遺伝子がエタノール合成遺伝子であるか (この遺伝子によりエタノールが合成されるか)、そしてこの遺伝子を利用してディーゼル燃料の実用的な高生産が達成できるかどうかは今後検討する。A 株の脂肪酸化合物の生産は、20 度よりも 28 度で顕著に生産されることを明らかにした。なお、世界的な He 不足によりこれらの脂肪酸化合物を解析している GC-MS が 2023 年 10 月から 2024 年 2 月まで使用できなくなり研究が中断した。引き続き解析を続ける。

A 株によるディーゼル燃料の生産は、A 株の培養条件を少しずつ変えたりしてみたが、再現出来なかったため、新たにディーゼル燃料の生産菌を探索した。そして、そのままディーゼル燃料となる C14 脂肪酸アルコール (1-テトラデカノール) を高生産するこれまでにない菌株を数株取得することに成功した (図 1 CD 株)。C14 脂肪酸アルコールは、報告者が微生物により以前高生産させることに成功した C16 脂肪酸アルコール (Teramoto, 2018, FEBS Lett) よりも融点が低く有利な燃料となることが期待できる。また、脂肪酸アルコールは、燃料以外にも、乳化剤 (化粧品・薬など) や潤滑剤になるなど幅広い用途をもち、燃料より高単価である。さらに、安全な天然の生物由来の脂肪酸アルコールは需要が高く、高付加価値がつく。そこで今後、この C14 脂肪酸アルコール高生産菌やこの菌のもつ C14 脂肪酸アルコール合成遺伝子を利用して、C14 脂肪酸アルコールの実用化レベルでの高生産を試みる。

C10 脂肪酸を主生産するこれまでにない菌株を 3 株取得することにも成功した (図 1 A2 株)。C10 脂肪酸を水素化 (脱酸素) して得られる C10 程度の炭化水素は、ガソリン、ジェット燃料、ディーゼル燃料、と全ての原油系燃料になる (ガソリンは C4-12、ジェット燃料は C8-16、ディーゼル燃料は C10-23)。生物は一般的に C14-18 の脂肪酸を主生産し、C10 脂肪酸を主生産する生物はこれまでに知られていなかった。また、分岐脂肪酸 (図 1 B 株)、シクロプロパン脂肪酸 (図 1 C 株) を主生産する菌は知られていたがこの菌もそれぞれ 2 株以上ずつ獲得することに成功した。原油系燃料として使用するには、直鎖の脂肪酸化合物のほか、分岐や環状構造を持つ

脂肪族化合物も必須である。分岐した脂肪族化合物は、高エネルギーで、熱に安定で、融点が高いため重要である。環状構造を含む脂肪族化合物も、燃料を高密度にするなど良い効果をもつ。中でもシクロプロパンは、最も高いエネルギー密度をもち最良である。そこで今後、本研究で得られたこれらの菌やこの菌の持つ遺伝子を利用して、ガソリン、ジェット燃料、ディーゼル燃料、と全ての原油系燃料になる完全な燃料の実用化レベルでの高生産を試みる。

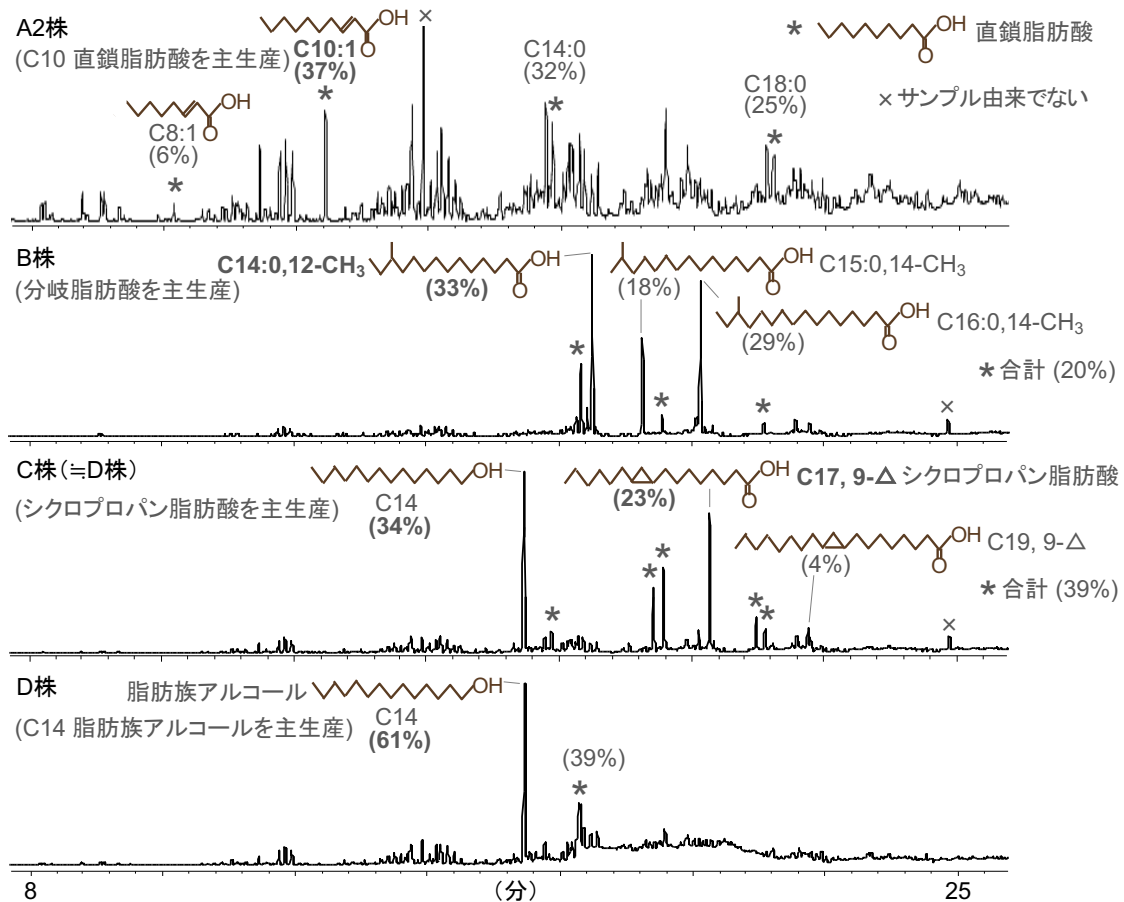


図1 報告者らが獲得した菌株の脂肪族化合物のGC-MS解析 A2, B, C株はメチル化後に解析した。括弧には全脂肪酸を100%とした脂肪酸割合を示した。

また、燃料生産菌の探索過程で、 γ -デカラクトンを生産するこれまでにない菌も発見した。DHA、ファルネシルアセトン、コハク酸の生産菌は知られていたがこれも発見した。 γ -デカラクトンは、桃などの植物や若い女性で合成され、甘い香りがすることで有名であり、ウイスキー製造時にも乳酸菌と酵母により作られこの香気成分を構成することで知られている。しかし、単独の微生物のみで γ -デカラクトンを生産することは知られていない。 γ -デカラクトンの構造は、細菌のシグナル物質として有名なアシルホモセリンラクトンと同様に5員環のラクトン構造をもつことや、モンシロチョウの忌避成分として知られることから、生理活性作用を持つ細菌界の新しいシグナル物質になる可能性が考えられる。発見した γ -デカラクトン生産菌は γ -デカラクトンを少量しか生産しないこともシグナル物質であることと矛盾しない。この菌によって、燃料生産菌の増殖が良くなるなど、複合微生物系で有用な機能を発揮することを期待している。

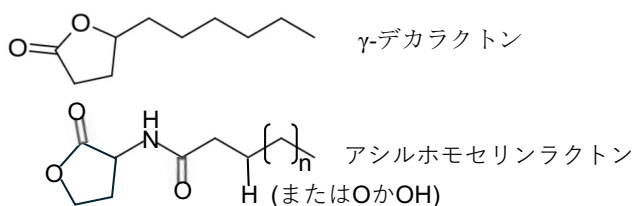


図2 γ -デカラクトンとアシルホモセリンラクトンの構造

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室のホームページ http://deepsea.jimdo.com

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------