

米国のバイオプロセス関連シンポジウム (SBFC)

「40th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals」に参加して

徳安 健

1. はじめに (著者まえがき)

2018年4月29日～5月2日の期間で、米国フロリダ州クリアウォータービーチにおいて開催された本シンポジウム(Chair: Steve Decker氏 (NREL: 米国再生可能エネルギー研究所))は、バイオ燃料や化成品原料等の大量消費素材の製造に向けて、バイオテクノロジーが果たすべき役割を討議する国際集会である。第40回目となる本会には約350名が参加し、リグノセルロース系バイオマスからのバイオ燃料及び有用化成品原料の生産を中心に、約90件の口頭発表と約160件のポスター発表が行われた。本年度のスポンサー企業は、Advance Bio LCC、IOGEN、ICM、KATZEN International、Novozymes、ExxonMobil及びCargillとなっている。著者は、幸運にも本年度大会のプログラム委員 (Bioproducts) の役に就き、多数の関係者と話す機会を得た。本稿では、著者が参加したセッションを中心にして大会概要を報告する。詳しくは、<http://www.simbhq.org/sbfc/>を参照いただきたい。

2. 本会の概要 (トピックス)

本会は、米国エネルギー省(DOE)傘下の研究機関が中心となって運営しているが、コーンエタノール産業、プラント製造業や酵素産業との距離が近く、コーンストーバー、麦わら等の変換技術を中心に成果発表が行われた。リグニンの高度利用に関しては、ALPHAプロセスのようにパルプ産業技術を基にしたリグニン高度利用技術が報告されているほか、CELF-CBPプロセスのようにセルロース系糖液製造プロセスに付加する形でリグニンを回収・高度利用するための技術開発が進んでいる。NRELでは、リグニン関連化合物の資化性をもつ *Pseudomonas putida*、乳酸菌 *Bacillus coagulans* 等を用いた化成品原料の製造プロセス開発を総合的に展開しており、有機合成研究者との連携を密にしつつ、合成生物学的アプローチを導入している。北欧が強みをもつ嫌気消化(AD) 研究に関しては、プロセスを高度化してメタンでなく有機酸等を製造する研究、埋め立てゴミ、廃坑等からのメタンガスを化成品原料などに発酵変換する研究成果、P4SB法によるプラスチックの再資源化などが報告されている。それに加えて、リグノセルロース糖化液の発酵による油脂製造とその利用に関する研究発表も多い。さらに、NRELのセルラーゼ研究グループが中心となり、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ等の酵素の機能解明と高度利用に関するセッションが設けられており、主に北欧からの多数のポスター発表に加えて、*Trichoderma reesei*由来のセルラーゼの触媒特性、*Caldicellulosiruptor bescii*由来のセルラーゼによるセルロース分解特性、LPMO(オキシゲナーゼの一種)の反応機構やリグニン分解における役割、L-アラビノフラノシダーゼ等に関する口頭発表が行われた。以下に各発表の概要(仮訳・抜粋)を示す。

基調講演：ダートマス大学の Lee R. Lynd 氏により「2G 2.0（第二世代技術のバージョン 2.0）」とのタイトルで行われた。第二世代バイオ燃料製造に関しては、めざましい技術進歩が達成された一方で、そのコストは依然として高く、製造量は予想より遙かに少ない。そして、2017 年 10 月にイタリアのセルロース系エタノール製造プラントは停止し、Dow-DuPont は同エタノール製造ビジネスから撤退した。対象をエタノール以外の製品に変えようとする企業も現れている。非従来型のオイルやガスの生産が燃料コストを押し下げてバイオ燃料の競争力を下げている一方で、軽自動車による脱炭素手段として電気自動車技術が注目されている。

このような状況下であるが、肯定的に技術開発を再評価すると、航空・海運輸送時の脱炭素化を達成するためにバイオ燃料は必要である点、そして、持続的な地域産業の発展及び地域農業環境の保全のために重要である点を強調できる。第二世代技術のバージョン 2.0 では、実現可能で連続的に達成できる段階を経て商用化を進める取組、そして大きなコスト低減を可能とするパラダイム変革に対する投資拡大が重要と考える。飛躍的な効率化に繋がる技術に関しては、例えば CBP(Consolidated Bioprocessing)-Cotreatment 技術が挙げられる。(O-Keynote、(講演等の番号。以下同様。O は口頭発表))

CELLF-CBP (Co-solvent Enhanced Lignocellulosic Fractionation-Consolidated Bioprocessing) : UC Riverside, Charles E. Wyman 氏らのグループは、希硫酸及びテトラヒドロフラン水溶液を用いる抽出系でヘミセルロース及びリグニンを取り出し、残渣となるセルロースに富む画分を *Clostridium thermocellum* により糖化するシステムを提案した (OS-8)。

リグニンから不飽和長鎖脂肪酸 (EPA 及び DHA) 及びカロテノイド (β -カロテンとアスタキサンチン) の製造 : Clemson 大学の Yi Zheng 氏らは、原生生物 *Thraustochytride striatum* を用いてリグニンからの高機能物質への変換能力を解析した (S17)。

リグニン・エタノール燃料油の開発 : コペンハーゲン大の Claus Felby 氏らはリグニンとエタノールの混合物が優れた燃焼性と安定性を示すことを見出し、海運輸送用燃料としての技術実証を進めている。シリカ系無機塩の除去が必要となる (O2-1)。

バイオマス糖化のためのアンモニア前処理 AFEX (Ammonia Fiber EXpansion) の 38 年間 : ミシガン州立大の Bruce Dale 氏は、コーンストーバー等の原料を AFEX 処理後にペレット化することで、高密度貯蔵性、輸送性、飼料利用特性及び糖化・エタノール変換特性が向上することを確認し、日産 100~200 トンのペレットを小規模

分散的に製造するシステム“AFEX-DEPOT”を提案している。本法については、現在、インドで技術実証が行われており、アセタミド生成による飼料品質への影響が十分に小さいことを実証中（O2-3）。

高純度リグニンの分別定量法としての ALPHA プロセス：Clemson 大の Junhuan Ding 氏らは、クラフトパルプ廃液からリグニンを抽出できる Aqueous Lignin Purification with Hot Acid (ALPHA) プロセスを提案し、熱酢酸と熱水の比を変えることで、分子量分布を変えて各画分の物性を制御し高付加価値化できることを報告した(O2-4)。

多様な生物化学変換プロセスから得られるリグニンの塩基触媒による低分子化工程の比較：NREL の Rui Katahira 氏らは、コーンストーバーとスイッチグラスの混合物（ペレット化工程あり・なし）を用いて希硫酸処理（DAP）及び脱アセチル化・機械的リファイニング（DMR）に供し、それを酵素加水分解（EH）した後に固液分離し、塩基触媒による低分子化（BCD）を行った。本方法における可溶化物の量と前処理方法との関係を解析した（S64）。

生物由来再生可能化成品原料の工学研究センター（CBiRC）の取組：アイオア州立大の Brent Shanks 氏は、ムコン酸、アジピン酸などのリグニン由来の基幹化合物から、誘導可能な化成品原料候補に至る合成経路をマップとして示すことで、多様な産業利用の可能性をアピールしている（O4-1）。

遺伝子組換え *Pseudomonas putida* KT2440 を用いたリグニンからの化学合成ブロックの製造と高付加価値化：NREL の Davinia Salvachua 氏らは、本菌の培養による 16 の代謝中間体の蓄積工程を開発し、リグニンからの合成工程を提案した。さらに、生成物を用いて化石資源由来の高分子よりも高機能な高分子の製造に成功した（O4-2）。

Pseudomonas putida KT2440 株からの中鎖長 PHA（ポリヒドロキシアルカノエート）の製造：ORNL の Adam M. Guss 氏らは芳香族化合物からの中鎖長 PHA の製造効率を向上するため、代謝工学的手法を駆使（O6-1）。

リグノセルロース系エタノールの低コスト製造のための酵母改変：Toyota Motor Corporation の Rie Hirao 氏らは、代謝工学的手法によってキシロース、アラビノース及び酢酸の利用性を向上しグリセロール生産が抑制された酵母を開発した。それに加えて、進化工学的手法を用いて発酵阻害物質となる酢酸、フルフラール、5-ヒドロキシメチルフルフラールに対する耐性を向上した。挿入遺伝子は安定にゲノムに組み

込まれており、大型タンクでの発酵試験で本酵母の操作安定性を確認した(M26)。

ナノセルロースの酵素処理時における基質構造変化の解析：NREL の Peter Ciesielski 氏らは、結晶性セルロースを糸状菌 *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼまたは好熱性細菌 *Caldicellulosiruptor bescii* 由来のセルラーゼにより分解し、その分解生成物の構造を解析した。その結果、前者がセルロース結晶の長さを多様化しながら繊維を細くするのに対して、後者が分解の途中で鎖長を均一長に短くする特性をもつことを解明した (O4-3、この後者の反応は、セルロース基質構造の特徴 (kink) に起因している可能性がある」と演者がコメント。)

有機物の嫌気消化による天然カルボン酸の製造：Earth Energy Renewables 社の Cesar Granda 氏は、非滅菌・開放系で、酵素を添加せず、非遺伝子組換え菌を用いて多様な有機物から有機酸の製造を可能とした。メタン発酵まで反応を進めずに短鎖一中鎖脂肪酸の製造に基質を仕向けることを特徴としており高純度化技術も有している。製造物となる脂肪酸は、エステル、アルコール、ポリオールやオレフィンの製造に加えて、ドロップインバイオ燃料（ガソリン、ディーゼル及びジェット燃料）への変換が可能である(O6-2、乳酸の生成抑制が重要と演者がコメント。)

廃坑から出るメタンの発酵変換による有機物生産：サンディエゴ州立大学の Marina Kalyuzhnaya 氏らは、炭鉱から出るメタンガスを大気放出する代わりに、*Methylobacterium alcaliphilum* 20ZR 株を用いて化成品原料であるエクトイン及び工業用酵素であるリパーゼへの変換を可能とした (O6-4)。

P4SB (Plastic waste to Plastic value using *Pseudomonas putida* Synthetic Biology)：ドイツ・アーヘン工科大の Nick Wierckx 氏らは PET (ポリ (エチレンテレフタレート)) 及び PU (ポリウレタン) を酵素分解し微生物発酵により PHA を製造する工程を提案した (O6-6)。

ウキクサの嫌気消化による有機酸製造：ペンシルバニア州立大の Ozgul Calicioglu 氏らは、栄養吸収能に富み水処理効果を持つウキクサを回収し、高付加価値化成品原料やバイオ燃料の原料となる揮発性脂肪酸の製造工程を開発した (O6-7)。

バイオマスからの再生可能な泡、ボトル及びゴムバンドの製造：ミネソタ大の Paul Dauenhauer 氏らは、フランジエンの Diels-Alder cycloaddition 反応と脱水によりポリエステルのモノマーであるパラキシレンが製造でき、フランと脂肪酸との Acid-cyclized acylation により界面活性剤の原料であるアルキルフランが製造でき、そして、Selective hydrogenation and dehydration により合成ゴム原料となるオレフ

イン前駆体が製造できることを示した(O8-1)。

リグノセルロース原料からのアクリル酸製造：NREL の Violeta Sanchez 氏らは、*Bacillus coagulans* を用いてバイオマス糖化液からの高効率乳酸製造を実現し、さらにアクリル酸に変換する工程を提案した (O8-2)。

1,4-ブタンジオールからの製品開発：Genomatica 社の Rachel Pacheco 氏は、同社が発酵法で製造するブタンジオール (GENO BDO) の販売拡大を進めつつ、新製品として1,3-ブチレングリコール (GENO BG) の開発に成功し、化粧品やパーソナルケア製品への利用に期待している。昨年、同社が株式会社ダイセルとも提携したことを紹介 (O8-3)。

小規模バイオプロセス構築の重要性について：NARO の Ken Tokuyasu (著者) らは、米国のコーン農家の 9 割以上が 5 ha 以上の土地を有する一方で、我が国の米販売農家の 9 割以上が 5 ha 未満となり、農業構造に対応した独自のプロセス開発が重要と訴えた。日本型の小規模のバイオマス変換技術の開発に向けて、極めてシンプルな工程、そして、希少酵素等のニッチ産業及び人への親和性を考慮した多様な高付加価値製造物の小規模生産の重要性を訴えた (O8-5、S14)。

白色腐朽菌の LPMO (Lytic polysaccharide monooxygenase) はバイオマス分解時におけるリグニン酸化に関与する：テキサス A&M 大の Shangxian Xie 氏らは、白色腐朽菌における LPMO 遺伝子の発現パターン及び基質構造の変化パターンから、本酵素はリグニン分解に関与するものと結論づけた (O9-4)。

過酸化水素により酵素製剤中の LPMO によるセルロース分解が効率化：ノルウェー生命科学大学の Gerdt Muller 氏らは、本酵素が、酸素よりも過酸化水素を基質とするペルオキシゲナーゼであることを報告した (O9-5)。

光誘導性のバイオマス分解システムの開発：コペンハーゲン大の David Alexandre Russo 氏らは、LPMO 中の銅イオンを還元し酵素機能を回復させるため、光励起する色素 (クロロフィリン-銅イオン) の利用条件を検討した (O9-6)。

糸状菌宿主における異種蛋白質の生産量の精密制御：フィンランド VTT テクニカルリサーチセンターの Merja Penttila 氏らは、異種蛋白質の生産量を精密に促進・抑制可能な遺伝子発現システムを構築し、酵母、*Trichoderma reesei* 等において機能を実証した (O12-1、木材腐朽菌については現在進行中との演者のコメントあり)。

前処理バイオマスの加水分解物を用いた産油性酵母による油脂製造：Kanagawa Institute of Technology の Seiji Nakagame 氏らは、亜硫酸一水蒸気前処理バイオマスの水溶性画分にコーンステープリカー（CSL）を添加した培地で生育する *Rhodotorula graminis* は、フルフラール及び5-ヒドロキシメチルフルフラール存在下でも高い脂質生産性を示す。CSLによる窒素添加量と脂質生産量との間の関係を解明した（M36）。

持続的なバイオディーゼル並びに魚餌供給のための産油性酵母を用いたリグノセルロース及びグリセロールからの脂質製造：スウェーデン農業科学大学の Mats Sandgren 氏らは、多数の油脂生産菌を用いてヘミセルロース加水分解物及び低純度グリセロール中での生育・油脂生産性及び油脂組成を解析し、*Rhodotorula* 属菌、*Rhodospiridium* 属菌等の有用性を示した。バイオリファイナリーアプローチによる解析を行い、バイオガス製造量を含めた総エネルギー回収量を解析した。さらに、油脂を魚餌として供与した際には、ネガティブな効果は現れなかった（M40）。

特別セッション「セルロース系エタノールを考え直す時？」：ミシガン州立大の Bruce Dale (BD) 氏がモデレーターとなり、論点整理のたたき台を説明した後に自由討論を実施。AFEX プロセスの開発者である Dale 氏は、セルロース系エタノールに係る大規模商用実証プラントが稼働延期や停止となっている現状について、「変換技術は機能している」、「今も我々は強い酵素・酵母ビジネスを保有している」という関係者のコメントを引用しつつ、変換技術の問題よりもバイオマス原料供給や輸送の問題が取り残されていると指摘している。特に、農家の立場からすると、低コストでワラを売っても旨味がない上に、ワラの低コスト輸送技術はまだ十分に開発できていない点を強調し、原料のサプライチェーンの確保が重要としている。農家の参加を促すためのバイオマス原料価格上昇については、バイオ燃料の販売価格、製造規模、温暖化抑制効果及び雇用創出効果によって吸収できる可能性があるとしている。その一方で、取り扱いが容易で高密度なコーン澱粉が多様な需要をもつものに対して、低密度のワラ等のセルロース系資源に対する需要は現時点で存在しない。セルロース系資源を動かすことから開始する必要がある、農場近傍における原料高密度化拠点の構築（Depot System）がブレイクスルーになり得るとしている（DB）。また、近年の燃料価格低下が開発投資減少の主因としつつ、再度揺り戻しがくる可能性もあり、技術水準を高めるための努力を怠るべきではないと述べている。第一世代エタノール製造企業からすると、既存製造インフラに対する第二世代技術のレトロフィットは障壁が低いと期待されてきたが、現状技術ではエタノール製造コスト増に繋がるため、導入できずにいる（澱粉系メーカーからの意見。）。低価格のセルロース系エタノールよりも高付加価値な製造物の小規模製造が重要になるという意見も出た。それに対して、バイオリファイナリー製造規模は、バイオ燃料の製造規模の千分の一程度となること

もあり、最初の一基目が成立して高付加価値製造物を造ることはできるが、成功するのは一基目だけであり、二基目の建設により値崩れが起こると指摘する。そして、現状では、安価な単糖はコーンミルから供給可能であり、セルロース系資源を使うインセンティブには繋がりにくい。さらに、(小規模) バイオリファイナーが (大規模) バイオ燃料製造に繋がる可能性は低いと指摘している (DB。著者は、本 WG での前投稿 (【情報 11】 地域バイオプロセス(20180312)) で、同様の問題点を指摘し、個性化・生体適合性及び地域バイオプロセスの総合化の中に解決策を提案している。) (O13)。

3. おわりに (著者感想)

第 40 回大会は、米国に加えて、北欧 (デンマーク、スウェーデン、フィンランド、ノルウェー、オランダ) 及び中国、ブラジルからの参加者が多く見られた。参加者は、第二世代バイオエタノール製造技術開発が急ピッチで進められていた数年前では 600 名以上だったのが、今回は 350 名程度に減少した。著者の印象では、盛会だった数年前は、米国とブラジルからの多数の発表に加えて、日本、韓国、カナダ、フランス、スペイン、インド等から複数名が参加しており、メキシコ、アルゼンチン、チリ、コロンビア等、中南米諸国からも数多く参加していた。これまでも、バイオマス変換技術開発の潮流には浮き沈みがあり、今は厳しい時期ということが理解できる。その一方で、米国や北欧諸国の参加者は、真にこの技術分野の重要性と突破力を理解し、このような厳しい時にこそ、火を絶やさず知恵を絞り、議論の質を向上し、革新技術を創り出そうという気概をもつ。また、スリム化した分、論点がクリアになっているようにも思える。研究費やミッションが短期的に変わっていく状況下では、継続的参加が厳しいことは十分に理解できるが、この時だからこそ、日本からも是非 (逆張りをして?)、この粘り強いメンバーの一員として継続的に参加して貰いたく思う。また、ポスター発表が企業との共同研究の契機となるような場面があったことを聞いた。企業が実証・商用展開したいバイオ要素技術の国際的価値を量り、次展開に繋げるためにも本会が役立つものと信じる。

本会の発表内容を振り返ると、いくつかの個性的な最先端成果を除き、国内学会等で聞く成果の内容との本質的な差は大きくないと感じる。また、米国等から発表された成果の中には、細菌の代謝経路、プラスチック分解菌などに関して我が国の研究成果がベースとなっているものが散見する。日本の研究蓄積が世界の技術開発に大きく貢献していることは講演を聴いていても明らかである。しかし、会場にいと、「これをなぜ、日本人でなく外国人が発表しているのか」という気持ちになる。アジア諸国の研究開発レベルが急速に向上し、手数では我が国の勝ち目がない状況下で、我が国の研究者が力強く研究を進めるためには、重要な場面での展開戦略を考える必要がある。そして、その戦略としては、開発競争を意識しすぎて隠しながら仕事をするのではなく、成果発表を通じて自らの研究戦略を公表し、討議を通じてライバルからの

信頼を確保し、協調的活動により共通障壁をクリアし、そして新展開のチャンスの積極的に確保することが重要となるものと信じる。特に、欧米の研究者達は、「手持ちの要素技術を実用化するためには、ライバルと研究の価値を認め合い、彼らと一緒に社会を巻き込んで、協調的に世の中全体を動かさないといけない」と気づいているのではなかろうか。本会は、相反する「海外研究者も同じ」及び「海外研究者は違う」という両感覚を味わえる貴重な機会となった。

本会では、ポスター発表者は50秒間の口頭プレゼンのチャンスが（希望者に）与えられて、若手研究者、学生達にとっても良い腕試しの場となる。討論も自由な雰囲気、若い人から重鎮まで積極的に質疑に参加している。本会はGW前半に開催されるが、第41回大会はシアトルでの開催なので、移動も多少楽になると期待される。

地域バイオプロセスを考える際には、この会で何回か話題に出ていた「小規模・高付加価値製品」という流れが著者の主張と合致しており、その方向性には期待を感じている。農業側から問題を正しく捉えようという米国内での議論も大切な取組である。しかしながら、各論的には、著者の思う規模感とは相当のギャップがあり、特別セッションで Dale 氏の指摘したようなバイオリファイナリーの問題に対する成功例の提示が重要となる。その一方で、農林水産業への技術適用を意識しつつ、微生物農薬としての *Pseudomonas* 属菌、産業用酵素としてのリパーゼ、魚餌としての油脂等を製造するような発表があり、小規模産業を意識した成果も見られている。日本は、小規模農業の比率が極めて高い国であり、このような国だからこそ開発できる個性的なバイオテクノロジーのあり方、そしてフレキシブルな小規模システムの姿があるものと信じたい。