

研究成果報告書

所属機関	職名	氏名
金沢大学 新学術創成研究機構	教授	仁宮一章

研究テーマ

CO₂を化成品原料へ再資源化するための革新的な微生物電気合成システムの開発

研究報告

1. 研究の背景と目的

CO₂は温暖化の原因として、排出削減や回収・貯留について技術開発が行われてきた。近年、逆にCO₂の再資源化を図る挑戦的な研究開発が急速に進展している。

CO₂を炭素源として利用できる微生物には光独立栄養と化学独立栄養に大別される。そのうち、化学独立栄養細菌とは、炭素源としてCO₂、エネルギー源としてH₂や酸化鉄(II)などの電子供与体を利用して生育する細菌である。特に、エネルギー源としてH₂を電子供与体として生育する細菌を、水素酸化細菌という。一方、2010年、微生物電気合成(Microbial ElectroSynthesis)の最初の論文が発表された。微生物電気合成とは、水の電気分解(アノード電極におけるH₂Oの酸化によるO₂発生、そして、カソード電極におけるH⁺の還元によるH₂発生)と、カソード電極側での水素酸化細菌の培養を組み合わせたものである。これにより、炭素源としてCO₂、エネルギー源として電気を用いることによって、水素酸化細菌に有機物(酢酸)を生産させることが実証された。(ここで、微生物電気合成に用いる電気は、太陽光をはじめ風力・水力・地熱など様々な自然エネルギーにより得られる電力を用いることができる。)

しかしながら、現状では、(1)微生物電気合成で生産される物質は酢酸であり、それ自身の付加価値が極めて低い、そして、(2)微生物電気合成における生産速度が極めて遅い、という質的・量的な問題がある。これらが解決されれば、微生物電気合成によるCO₂の再資源化が実用に近づくのではと考えた。

そこで、本研究では、化石資源由来CO₂の再資源化を目指し、微生物電気合成によるCO₂から化成品原料(エタノールもしくはイソプロパノール)への高速変換のための技術開発を行った。具体的な革新ポイントは以下の2点である。水素酸化細菌の一種である絶対嫌気性のアセトジェンについて、微生物電気合成における最終代謝産物を、酢酸ではなくエタノールになるよう代謝工学的に改変を行った。微生物細胞が付着しやすいような多孔質で正の表面電荷を有し、また、導電性を示す安価でスケールアップが容易な3D微生物カソード電極を作製した。

2. 研究成果および考察

(1) エタノール生産性の代謝改変アセトジェン株の作製

アセトジェン株として、カソード電極からの電子受容を直接行うと報告されている株を含む、以下の5種を個々に用いた。酢酸のみを生産するアセトジェンとして、*Acetobacterium woodii* DSM 1030 及び *Sporomusa ovata* DSM 2662 を用いた。酢酸に加えエタノールを生産しうるアセトジェンとして、*Clostridium autoethanogenum* DSM 10061、*C. ljungdahlii* DSM 13528 及び *C. ragsdalei* DSM 15248 を用いた。

アセトジェンは、嫌気下で Acetyl CoA から酢酸と ATP を合成し、この ATP を生育に利用している。Acetyl CoA からエタノールへの代謝反応を触媒する Bi-functional aldehyde/alcohol dehydrogenase, adhE 遺伝子の増強を行ってしまうと、この ATP 合成が失われ、ATP 量論上、菌体の生育が著しく損なわれる(最悪、生育不可)。そこで、ATP 合成を失うことなくエタノール合成を増大させるためと、以下の戦略をとった。*C. ragsdalei* DSM 15248 については、Aldehyde:ferredoxin oxidoreductase, aor 遺伝子(*C. autoethanogenum* 由来)を導入し、酢酸からアセトアルデヒドへの代謝反応を増強した。さらに Primary/secondary alcohol dehydrogenase, p/s adh 遺伝子(*C. autoethanogenum* 由来)を導入しアセトアルデヒドからエタノールへの代謝反応を増強した。

炭素源としてCO₂、エネルギー源としてH₂を用いた化学独立栄養培養を行い、培養液中の有機酸(ギ酸(C1)、酢酸(C2))およびアルコール(エタノール(C2))をHPLC分析した。

その結果、ビタミン群と0.1%の酵母エキスを含む半合成培地である Tanner 培地を用いた場合は菌体

増殖と酢酸生成は見られたが、エタノールの生成は見られなかった。この原因として、Aldehyde:ferredoxin oxidoreductase や Primary/secondary alcohol dehydrogenase の酵素反応が進行するための還元力が不足していたのではないかと考えられる。還元力の不足を補うためには、炭素源かつエネルギー源として、一酸化炭素 CO を使用せざるを得ないのでないかと考えられる。

(2) 微生物吸着性と導電性を有する多孔質な 3D 微生物カソード電極の作製

多孔質で導電性のカーボンフェルト電極をベースとして、キトサン（アミノ基により正に帯電するため負に帯電した微生物細胞が静電的吸着しやすい甲殻類由来バイオポリマー）と、ポリアニリン（安価な導電性ポリマー）の2種のポリマーを3次的に修飾した3D微生物カソード電極を以下の工程で作成した。キトサンは1%酢酸水溶液に均一に溶解させ、また、アニリンは2 M 塩酸に溶解させる。キトサン溶液とアニリン溶液を等量ずつ混合し、そこにカーボンフェルト電極を浸す。そして、重合開始剤として過硫酸アンモニウムを添加し、ポリアニリンを合成した。アルカリで中和後、キトサンをグルタルアルデヒドで架橋した。

作成した3Dカソード電極は、FTIRにより化学構造を、ボルタンメトリーにより電気化学的な評価を行った。また、SEMにより微生物電気合成でのアセトジェンの吸着を評価した。

その結果、キトサンコートした場合の方が、より *C. ragdalei* DSM 15248 の吸着が起こっていることが確認できた。

(3) 代謝改変アセトジェン株と 3D 微生物カソード電極を用いた微生物電気合成による CO₂ と電気からのアルコールの生産

上記(1)において作成した最終代謝産物が酢酸ではなくエタノールになるよう代謝改変したアセトジェン株、そして上記(2)において作成した 3D 微生物カソード電極を用いた効率的な微生物電気合成を実施した。電圧は、400 mV~1000 mV の範囲で条件検討した。

その結果、残念ながらエタノールは生産されなかった。一方で、144 時間で約 5 g/L の酢酸を得ることができた。得られた酢酸を炭素源として、PHB 生産菌 *Cupriavidus necator* の好気培養を別途に行うことにより、酢酸を生分解プラスチック PHB へと変換することができた。*C. necator* を代謝工学的に改変することにより、生分解性プラスチック PHB だけでなく、既存プラスチック（ポリプロピレン）の原料（イソプロパノール）への変換も可能となる。

3. 将来展望

提案するシステムが実用化されれば、具体的には、火力発電所から排出されるCO₂を含む排気ガスや、プラごみ焼却場から排出されるCO₂を含む排気ガスを、太陽光などの自然エネルギーを利用して、直接エタノールやイソプロパノールに再資源化することができる（エタノールは、プラスチック市場の25%を占めるポリエチレンの原料となる。イソプロパノールは、プラスチック市場の25%を占めるポリプロピレンの原料となる）。また、本研究で目指したエタノール(C2)、イソプロパノール(C3)のみならず、ブタノール(C4)、2,3ブタンジオール(C4)といった、より炭素数の大きな燃料・化成品原料の生産へ展開もできる。以上、本研究は、CO₂再資源化によるCO₂排出削減へ向けた挑戦的な研究となる。

4. 研究発表

任敏、仁宮一章 ; CO₂ conversion to acetate and ethanol by microbial electrosynthesis using *Clostridium ragdalei*, 第73回 生物工学会大会、2021年10月