

二国間交流事業 共同研究報告書

令和4年4月11日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[代表者所属機関・部局]
神戸大学・先端バイオ工学研究センター
[職・氏名]
教授・蓮沼 誠久
[課題番号]
JPJSBP1 20196503

1. 事業名 相手国: 南アフリカ共和国 (振興会対応機関: NRF) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 細胞形態およびタンパク分泌機構の最適化による新規バイオプロダクション用酵母の創製

(英文) Development of a novel yeast strain for bioproduction by optimization of cell morphology and secretion mechanisms

3. 共同研究全実施期間 平成31年4月1日 ～ 令和4年3月31日 (3年0ヶ月)

4. 相手国代表者(所属機関・職・氏名【全て英文】)

University of the Western Cape, Associate professor, Riaan den Haan

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,712,501 円
内訳	1年度目執行経費	2,337,500 円
	2年度目執行経費	2,375,001 円
	3年度目執行経費	円

6. 共同研究全実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	9 名
相手国側参加者等	6 名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	3	0	3(3)
2年度目	0	0	0(0)
3年度目	-	-	-()
4年度目	-	-	-()

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 本委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入: 相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は本委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流実績の概要・成果等

(1)研究交流実績概要(全期間を通じた研究交流の目的・研究交流計画の実施状況等)

本事業の目的は、細胞表層にセルロース分解酵素(セルラーゼ)群を集積させてセルロース分解能を付与された酵母(セルラーゼ表層提示酵母)のセルロース分解能力(糖化能力)を向上させる技術を開発し、より実用性の高い新規バイオプロダクション用酵母を創製すること、および、共同研究活動を通じた実験技術の提供や人材交流により日本と南アフリカ共和国の将来に資する若手研究者を養成することである。これらの目標の達成に向けて、以下の研究交流活動を実施した。

初年度の 2019 年度は、セルラーゼ表層提示酵母の糖化能力の向上に向けて、日本側の研究グループが酵母形態学の観点から、南アフリカ側の研究グループが酵素分泌能力の観点からそれぞれ基礎的な検討を行い、新規バイオプロダクション用酵母の創製に向けた具体的な育種戦略を決定した。また、交流面では、9 月に南アフリカ側の教員 1 名、大学院生 2 名が日本側の研究拠点である神戸大学を訪れ、両国のグループの基礎検討の結果を共有するための打ち合わせやセミナー、および研究施設の見学を行った。さらに、訪問した大学院生のうち 1 名(Bronwyn Chetty)は技術共有のために 2 週間にわたって滞在し、神戸大学でセルラーゼ表層提示酵母を用いたバイオエタノール生産試験や、バイオマス分解能力の測定法などについてのトレーニングを行った。11 月には日本側から教員 1 名、大学院生 2 名が南アフリカ共和国へ渡航し、Western Cape 大学および Stellenbosch 大学を訪問してバイオマス利活用技術に関する同国最先端の研究設備を見学したほか、セミナーとディスカッションを通じた研究情報の交換や、若手研究者・学生との交流会を行った。

2020 年度は、初年度の基礎検討の結果に基づいて、糖化能力を向上させたセルラーゼ表層提示酵母の構築を両国のグループが共同して実施した。まず、日本側の研究グループがより多くのセルラーゼを細胞表層に保持できる酵母形態学特徴を持った酵母株の育種を行った。その結果、細胞壁のキチンに関連する遺伝子 *CCW12* および *CCW14* を同時に破壊することで、セルラーゼを固定する「場」である細胞壁の厚みが増大することが分かった。そして、この酵母株を宿主に用いてセルラーゼ表層提示酵母を構築したところ、従来のセルラーゼ表層提示酵母に比べて約 1.4 倍のセルラーゼ活性を示した。次に、この酵母株を南アフリカ側の研究グループに提供し、同グループにおいて酵素分泌能力を強化するための育種が進められた。さらに、リグノセルロース系バイオマスの分解物に含まれる発酵阻害物に対する耐性を強化するための育種も行われ、バイオプロダクション用酵母としてより実用性の高い酵母株に改良された。一方で、想定外の新型コロナウイルス感染症の世界的な拡大により、特に年度の前半において両大学における研究活動が当初の想定に反して著しく制限されたことなどから、完成した改良型セルラーゼ表層提示酵母株の評価は当初の計画通りに実施することができなかった。また、交流面においても、海外への渡航制限により当初計画していた 2 回目の相互訪問は中止せざるを得なかった。これらのことから、本事業の委託期間を当初計画から 1 年延長し、目的達成に向けて引き続き共同研究を続けることにした。

最終年度となった 2021 年度は、完成した改良型セルラーゼ表層提示酵母株の評価を両国の研究グループが共同で行い、この酵母株のセルロースからのバイオエタノール生産能力が従来株に比べて高いこと、酢酸などの発酵阻害物の存在下でも高い発酵能力を発揮できることなど、バイオプロダクション用酵母として優れた特性を有していることを確認した。一方、交流面においては、2021 年度も海外渡航に関する状況は改善せず、相互訪問の実施は断念せざるを得なかったが、その代わりとして神戸大学と Western Cape 大学の若手研究者・学生が参加するオンライン形式でのワークショップを 3 月に実施し、本共同研究を通じて得られた両グループの研究成果について共有・議論するとともに、将来のさらなる共同研究と人材育成に向けた意見交換を行った。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

セルラーゼ表層提示酵母の糖化能力の強化を目的とした従来の研究は、そのほとんどがセルラーゼ遺伝子の過剰発現などにより「如何に多くのセルラーゼを細胞表層に送り込むか」という観点から実施されたものであった。一方、本事業では、セルラーゼが固定される「場」である酵母の細胞壁に着目し、電子顕微鏡解析などによ

りその形態学的特徴、特に細胞壁の厚みがセルラーゼの表層提示能力に大きな影響を及ぼすことを明らかにした。これにより、「細胞壁の形態がセルラーゼの表層提示に適しているか」、「細胞壁のどの位置にセルラーゼを固定すべきか」という、従来とは全く異なる観点からセルラーゼ表層提示酵母の糖化能力を強化することが可能になり、実際に糖化能力を大幅に強化することに成功した。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

セルラーゼ表層提示酵母を実用性の高いバイオプロダクション用酵母として完成させるためには、リグノセルロース系バイオマスの分解物に含まれる発酵阻害物の存在下でも、セルラーゼを効率良く細胞表層へ輸送(分泌)できることが重要であるが、酵母の酵素分泌や阻害物耐性には多数の遺伝子が関連しているため、セルラーゼ表層提示酵母に有効な遺伝子を特定することは容易ではなかった。本事業では、酵母におけるセルラーゼ分泌や発酵阻害物耐性の遺伝子メカニズムについて世界トップクラスの研究実績を持つ Western Cape 大学の Riaan den Haan 准教授らのグループの協力により、多数の候補遺伝子の中からセルラーゼ表層提示酵母のセルラーゼ分泌能力、阻害物耐性の強化に有効な遺伝子を特定することに成功し、バイオプロダクション用酵母としての実用性を高めることができた。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

リグノセルロース系バイオマスからのエタノール生産は、バイオマスを糖化するための酵素製剤コストによる経済性の悪化がその普及の大きな妨げとなっている。本事業により開発された技術は、この酵素製剤のコストを従来よりもさらに削減することを可能にするものであり、バイオエタノール生産プロセスの経済性の向上、ひいてはその普及を実現する有用なツールになると考えられる。また、この成果はバイオエタノール以外のバイオ燃料や化学品の生産へも応用可能であることから、化石資源への依存度の低減や、新産業による雇用の創出など、日本および南アフリカ共和国の持続可能な発展を実現するうえで重要な意義をもつと考えられる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取り組み、成果)

上記の「研究交流実績概要」で述べた通り、初年度の2019年度に両国の教員・学生が相手国を相互に訪問し、打ち合わせ、セミナー、研究施設見学、実験技術供与などの交流を行った。想定外の新型コロナウイルス感染症の世界的な拡大とその影響の長期化により、計画していた2回目の相互訪問の実施は断念せざるを得なかったが、その代わりとして2021年度には神戸大学とWestern Cape大学の若手研究者・学生が参加するオンライン形式でのワークショップを実施した。

国際学会等の機会が著しく制限されている状況下において、若手研究者や学生にセミナーやワークショップを通じて英語プレゼンテーション能力・ディスカッション能力を養わせる機会を提供し、さらに両国のバイオマス利活用分野の将来に資する国際的な人的ネットワークを構築できたことは、本事業の大きな成果である。

(6)将来発展可能性(本研究交流事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

本事業を通じて日本側の研究グループが有するセルラーゼ表層提示酵母を用いたバイオプロダクションの技術が南アフリカ側の研究グループに提供されたことで、南アフリカ側のグループでは当該技術を利用して同国のバイオマス資源を活用するための新たな研究テーマが複数立ち上がっている。また、日本側の研究グループにおいても、本事業の成果をバイオエタノール以外のバイオ燃料や化学品の生産に応用するための研究をすでに開始しており、これらの研究活動を確実に社会貢献へと結びつけるべく、AJ-CORE (Africa-Japan Collaborative Research) 等を含めた新たな国際共同研究事業への応募に向けて、相手国研究代表者と協議中である。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記述してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞、産業財産権の出願・取得など