

### 低コストで珪藻を大量培養するための実証実験



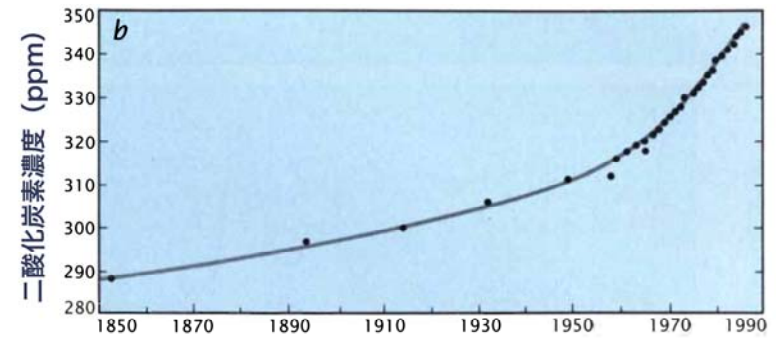
葉子野康浩

兵庫県立大学大学院・生命理学研究科



### 大気中の二酸化炭素濃度の推移

現在の二酸化炭素

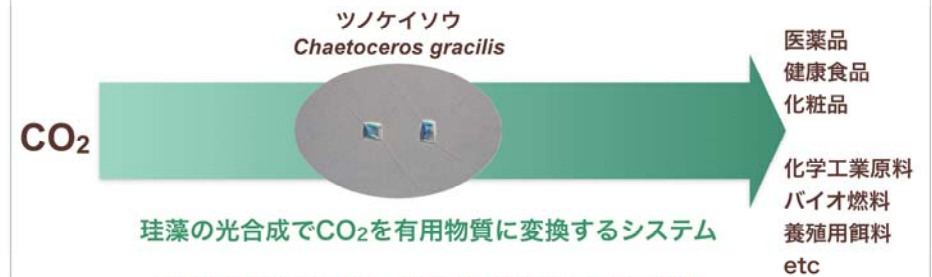


Houghton and Woodwell 1989 より

温室効果ガスの削減を中長期にわたって継続的かつ着実に進めていくため、文部科学省が策定する研究開発戦略のもと、新たな科学的・技術的知見に基づいて温室効果ガス削減に大きな可能性を有する技術を創出するための研究開発を推進し、グリーン・イノベーションの創出につながる研究開発成果を得ることを目指します。



### 珪藻は地球上の光合成的CO<sub>2</sub>固定の約25%を担う重要な微細藻類



珪藻の光合成でCO<sub>2</sub>を有用物質に変換するシステム

珪藻の生産性を向上させ、あるいは本来産生しない有用物質を産生させるための遺伝子組換え技術開発から、大量培養、有用物質の製品化までのプロセスの一貫した開発

基礎科学に立脚した応用科学



社会実装



低炭素化社会

## 再生可能エネルギー生産生物としての微細藻類

### 有用物質生産に微細藻類を用いるメリット

- 単位面積当たりの収穫量が多い
- 湖沼や汽水域利用が可能
- 食料との競合が少ない
- バイオ燃料だけでなく、高付加価値物質の生産が可能

### 有用物質生産に微細藻類を用いるデメリット

- 培養方法によっては、コストが高い（照明、培地など）
- 屋外での粗放的な大量培養が可能な種は限られる
- 光を利用するため、高密度の培養が難しい — 回収、濃縮が必要
- 有用物質の抽出過程が必要 — 硬い被殻や細胞壁の破砕が必要

## バイオディーゼル原料間の比較

作物	オイル収量 (L/ha)
コーン	172
ダイズ	446
キャノーラ	1,190
ジャトロファ	1,892
ココナツ	2,689
アブラヤシ	5,950
微細藻類 <sup>a</sup>	136,900
微細藻類 <sup>b</sup>	58,700

<sup>a</sup> バイオマス中の油脂量を70%とした場合  
<sup>b</sup> バイオマス中の油脂量を30%とした場合

Chisti 2007 より

微細藻類は、単位面積当たりの収穫量が格段に高い

## 珪藻を用いる意義

- 水圏の重要な一次生産者で、地球の炭素循環に大きく関わっている  
地球上の全光合成的CO<sub>2</sub>固定の約25%を担っている  
熱帯雨林の光合成量に匹敵
- 最終氷期には珪藻の大増殖のために、大気中二酸化炭素が大幅に低下した  
7万年前から1万年前
- 原油の起源生物のひとつ

再生可能資源生物として、  
高いポテンシャル

### 弱光適応型の光合成生物

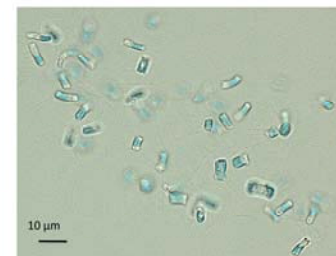
良好な日照条件を求めて海外に展開しなくても良い



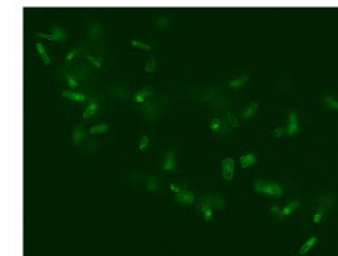
## 実用微細藻類で、 国際的にも初の実用的形質転換方法の開発

研究着手後、わずか2年半で実現

高発現プロモーターによるツノケイソウにおける外来遺伝子発現  
～蛍光タンパク質の発現～



明視野像



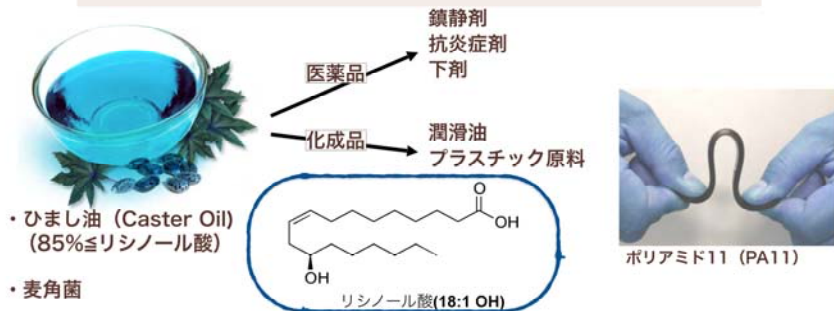
Azami-Green (mAG) を発現する  
ツノケイソウ形質転換細胞

特許出願：2014年9月8日  
JST支援により、PCT出願  
2015年9月7日

Iuku et al. *Photosynth Res* 123 (2015)

## リシノール酸の供給源と、その用途

単価	年間生産量 (トン)
10万円/g (精製試薬) 3,000円/500mL (純度80%)	13,500 (国内)



トウゴマ種子油の90%を占めるが、トウゴマには毒性のリシンが含まれるため、代替原料が求められている。

大量培養が可能なツノケイソウで生産できれば、代替供給源の候補

麦角菌の **リシノール酸生成酵素遺伝子** を珪藻に導入して、実際にリシノール酸を合成・蓄積させることが可能になった。

9

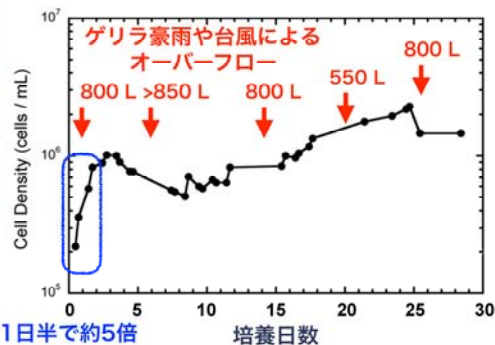
## 有用な珪藻



社会実装 (産業的利用) のためには  
培養の低コスト化が必須

10

## 野生株の粗放的野外培養実験



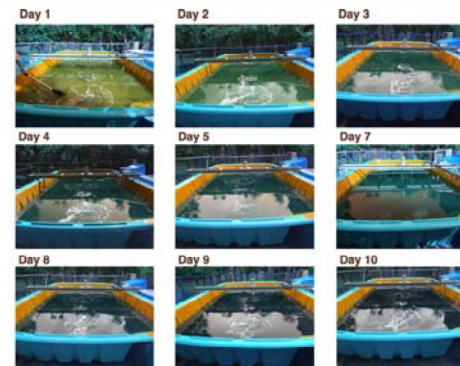
1日半で約5倍  
初日の倍加時間は7.2時間  
(目標値は約12時間)

環境の急激な変化に対するロバスト性を有する

【菓子野G】

11

## 実用的大量培養時のネックのひとつは培地のコスト



培地の価格 (珪藻での一例)

チッソ、リン酸などの栄養塩

人工海水

合計

1トン当たり

約1,000円

約3,250円

約4,250円

油脂生産量 (室内実験値)

200~400 g

12

## 播磨高原東浄水場の污水を使った培養実験

コントロールの培地

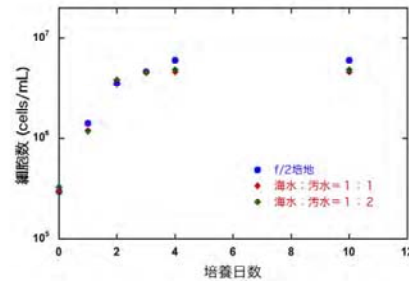
	f/2	海水：汚水=1：1	海水：汚水=1：2
世代時間	11.9 (±0.90)	13.4 (±2.5)	12.0 (±0.62)
9日目のTAGの量 (mg/L)	161.7 (±6.0)	92.95 (±6.18)	129.4 (±4.04)

n=3

下水を栄養源に使うことができる。



低コストでの大規模培養  
下水処理の費用・エネルギーの低減に貢献



Tokushima et al. (2016)

13

## 大的析水苑

兵庫県姫路市の下水処理施設



Google Mapによる画像

滞（汽水）

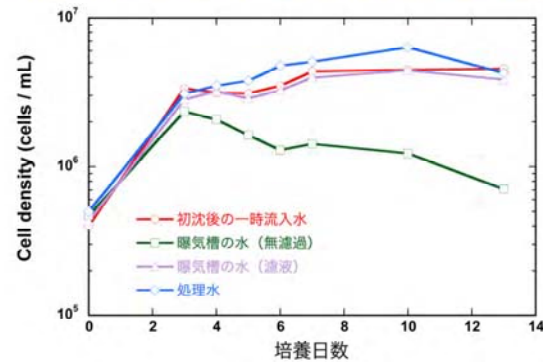
採水し、水質測定、培養実験済み

姫路市の協力により、大的析水苑（下水処理施設）内の土地（最大25m x 100m）の無償貸与。

天然の珪藻（野生株）で培養技術を確立する。  
合わせて、形質転換株の大量培養展開を想定した問題点を洗い出す。

14

## 大的析水苑の污水を使った試験管培養



- ・初沈後の一時流入水
- ・曝気槽の水（無濾過）
- ・曝気槽の水（濾液）
- ・処理水

滅菌処理せずに培地として使用

濾過していない曝気槽の水以外は、いずれも良好な増殖

15

## 珪藻大量培養実験設備@姫路市下水道センター大的析水苑



全体外観



レースウェイ型水槽



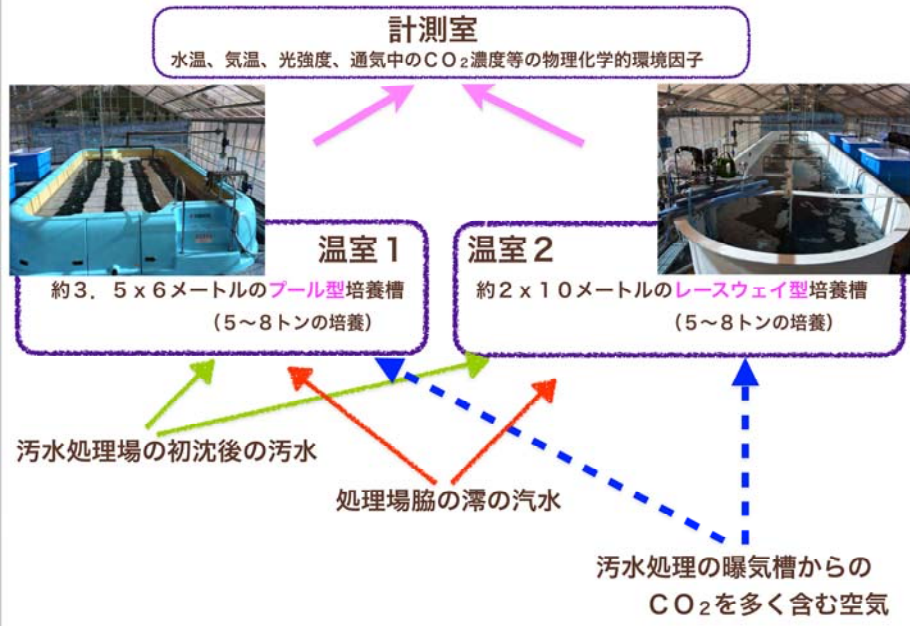
現場実験室および制御盤



プール型水槽

16

## 大的析水苑に設置した珪藻培養実験施設の概要



17

## この培養施設でなにをするのか

この施設を用いて、天然のツノケイソウ（「野生株」）の培養

増殖特性と物質生産の効率化

汚水と海水との混合比や通気方法

年間を通した培養条件の最適化

細胞破碎と有用物質回収のためのマイクロバブル処理のシステム化

トータルコスト評価

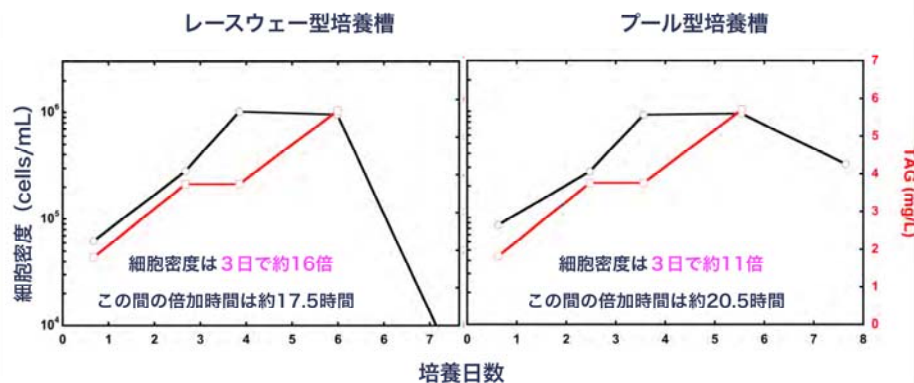
CO<sub>2</sub>低減効果の評価

等々

将来の形質転換株培養のために、形質転換株を大量に培養する際の設備上の問題点の洗い出し

18

## 増殖の様子



初沈後の一次流入水と滞からの汽水を等量ずつ混合し、約5トンの培養液とした。

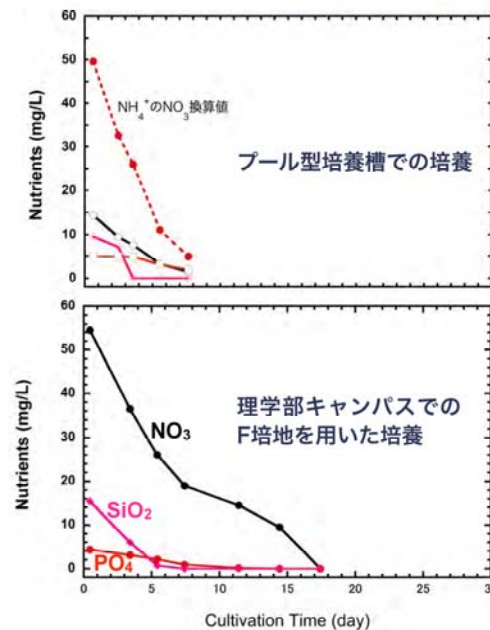
汚水も汽水も取水ポンプにゴミが入らない程度のメッシュを通したのみで、除菌・滅菌等  
は行っていない。

培養開始後、汚水に含まれる栄養塩で良好な増殖を見せた。

培養開始後1週間前後で、沈降・付着により浮遊している珪藻が急減した。

19

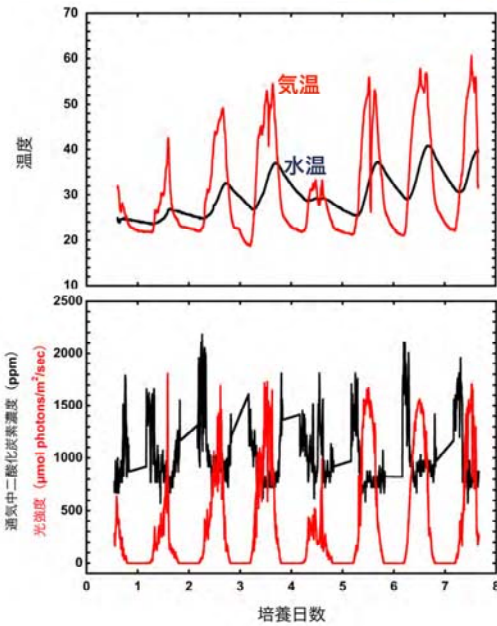
## 珪藻の増殖に伴う栄養塩の変化



窒素源は、ほぼ、アンモニウム態  
主要3要素は、F培地に近似

20

## 物理化学的環境因子の変化 (プール型培養槽)



温室内が高温になるため、培養槽の水温も徐々に高温へと推移。

ツノケイソウの生育温度は15~35度なので、締め切った温室での培養には温度管理が必要。

21

## すでに見出された問題等

寒冷期の水温維持

寒冷環境下で増殖特性の良い株の探索

温室の保護

鳥害、ゴルフボール  
(屋根に複数の極細ワイヤーを張ることにより、鳥による被害が劇的になくなった)

寒冷期の送気系の保護

曝気槽からの空気が多量の湿気を含み、とくに夜間の冷気によって結露、配管内に多量の水の蓄積  
=> 省電力(CO<sub>2</sub>放出削減)も兼ね、送気を日中のみ行うようタイマー制御機構を追加。  
配管に排水ドレンを追加した。

温暖期の温室内温度の上昇

採水系の遮光

採水ホース内に藻類が繁茂してしまうので、配管を遮光しておく必要あり

配管設備の材質の問題

温暖期の水温過上昇(培養後期に、他種藻類とくに糸状シアノバクテリアの優占的増殖)

培養の機械化

22

## 下水由来の資源を珪藻培養に有効活用するための課題

### 水処理生物に対する理解

培養開始数日後に多種微生物が優占し始め、珪藻が凝集し沈降・付着することを防ぐため、水処理生物に対する理解も重要

### CO<sub>2</sub>溶解促進方法の開発

水にCO<sub>2</sub>が溶解する速度が遅いため、送り込んだCO<sub>2</sub>の多くが光合成に利用されずに大気中に放出されてしまう。水にCO<sub>2</sub>が溶解する効率を向上させる散気法の開発が必要

### 高密度培養

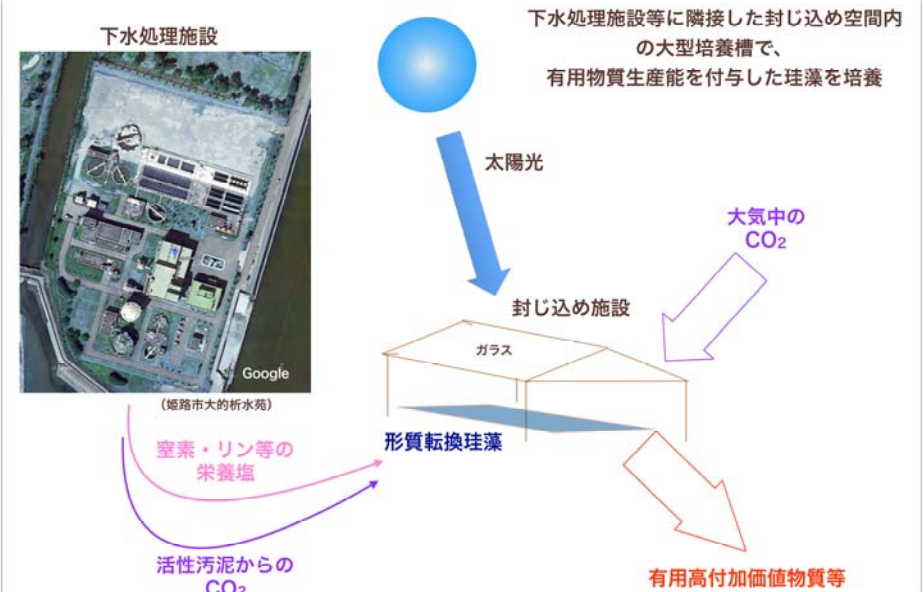
下水利用でなくても、野外での粗放的大量培養では高密度培養が課題

### 培養後の藻類の利用用途の拡大

燃料化は、コスト的課題がまだ過大

23

## 将来構想



24