

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「二酸化炭素排出抑制に資する革新的技術の創出」
研究課題「オイル産生緑藻類 *Botryococcus* (ボトリオコッ
カス) 高アルカリ株の高度利用技術」

研究終了報告書

研究期間 平成20年10月～平成24年3月

研究代表者：渡邊 信
筑波大学生命環境系、教授
(大学院生命環境科学研究科、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本研究は、緑藻 *Botryococcus* の高アルカリ株の炭化水素生産効率を一桁高くするために必要な基礎的知見の把握と基盤技術の開発をおこなった。そのため、①藻類のもつ炭化水素生産の潜在力をあげる(生物学グループ1, 2)、②濃縮・収穫～抽出・精製プロセスを最適化する(化学グループ)、③スケールアップした試験プラント・デモプラントによる藻類バイオマス生産を最適化する(工学グループ1, 2)、ための研究をおこなった。本研究は炭化水素産生藻類を対象として、スクリーニング、培養生理、品種改良等の生物学的基盤研究から藻類生産→濃縮・収穫→抽出・精製の全プロセスの最適化を図ることを目的としたものである。3 年半のプロジェクト推進により得られた全体のシステムの最適化にかかわる主要な成果として、

- ① 炭化水素を産生する藻類として、*Aurantiochytrium* の培養株をスクリーニング。本株のスクワレンの炭化水素を生産し、その生産効率は *Botryococcus* より一桁高く、その最適温度、塩分、グルコース濃度を明らかにしたこと、およびこれにより、*Botryococcus* と *Aurantiochytrium* の生産を水処理プロセスと統合して行うという新たな展開を拓いたこと、
- ② *Botryococcus* は $40 \mu \text{mol photon/m}^2/\text{sec}$ という低光強度で増殖速度が飽和する。このことにより、温度条件さえととのえれば、晴天にかぎらず、曇天、雨天でも増殖する可能性が強く示唆されたこと、
- ③ EST 解析により、Race A (アリカジエン、アルカトリエンおよびその派生物の炭化水素を生産) と Race B (トリテルペノイドの炭化水素を生産) の炭化水素の代謝過程で律速となるプロセスと遺伝子を推定することができたこと、
- ④ 除草剤耐性の突然変異株の作成に成功。この成果と *Botryococcus* が強い抗生物質耐性をもつことが判明したことにより、異種混入を制御する可能性が拓けたこと、
- ⑤ 濃縮・収穫～抽出・精製プロセスにおいて、加熱処理をほとんど必要としない技術・システムを開発したこと、
- ⑥ 炭化水素の構造、燃料物性をあきらかにし、B 重油相当のものであることが判明したこと、
- ⑦ 試験プラントによる実験では、野外において、 $1 \text{ g/L} \rightarrow 2 \text{ g/L}$ への増殖速度が倍加時間換算で 8 日と算定されたこと、
- ⑧ 植物用肥料を希釈した K 培地における増殖は、人工合成培地 AF-6 と同じであることを明らかにした。K 培地は、培地作成に係るエネルギー消費の削減に寄与すると考えられたこと、
- ⑨ 大豆有機廃水を 2% 添加することにより、*Botryococcus* の増殖速度が倍加時間 2 日程度に早くなり、炭化水素生産も 2 倍程度となったこと、

があげられる。

以上のように、*Botryococcus* よりも 10 倍以上の炭化水素生産能力をもつ *Aurantiochytrium* 株の発見、増殖に最適な培養条件の決定、炭化水素合成に係るほとんどすべての遺伝子配列の決定、および除草剤耐性株の開発が、化学グループからはエネルギー収支の観点から有効である藻体濃縮法と炭化水素抽出法の開発が、工学グループからは試験プラント実験により、全工程におけるコスト・エネルギー収支改善に資する培地の開発、室内でのタネ培養～屋外試験プラント～屋外デモプラントまでのシステム開発がなされた。

(2) 顕著な成果

1. スクワレンを乾燥細胞重量当たり 20% 蓄積する株 (18W-13a) の発見 (発表原著論文 1 と 3、特許出願国内 2、海外 1)

概要: *Aurantiochytrium* 国内株のスクワレン産生株のスクリーニング法を開発し、2～3 日間の培養で藻体乾燥重量あたり 20% の含量で、培養液 1 リットル当たり 1.3g の量でスクワレンを生産する *Aurantiochytrium* sp. 18W-13a 株を発見した。スクワレンはテルペン系炭化水素であり、化粧品、医薬部外品等に利用されているものであるが、大量生産が可能となれば良質な燃料としての利用が期待される。

2. 除草剤耐性株の開発 (発表原著論文 17)

概要:BOT88-2 株について除草剤パラコート耐性株が 34 株、除草剤グルホシネート耐性株を 17 株得た。BOT22 株については、除草剤パラコート耐性株が 21 株、除草剤グルホシネート耐性株の候補が 20 株得られた。このことにより、野外培養系での異種藻類の混入を制御できる基礎が確立された。

3. 試験プラントによる培養プロセスの最適化(発表原著論文 8)

概要:プラントの形状、材質の最適化をおこなうとともに、人工培地から植物肥料希釈培地 K 培地を開発し、野外での大量培養のためのデモプラントへの道筋を作った。

§ 2. 研究構想

(1) 当初の研究構想

緑藻ボトリオコッカスの高アルカリ株の炭化水素生産効率を一桁高くするために必要な基礎的知見の把握と基盤技術の開発をおこなうことを目的として、①藻類のもつ炭化水素生産の潜在力をあげる(生物学グループ)、②濃縮・収穫・抽出・精製プロセスを最適化する(化学グループ)、③スケールアップした試験プラント・デモプラントによる藻類バイオマス生産を最適化する(工学グループ 1, 2)、ための研究を実施した。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

炭化水素の生産効率がボトリオコッカスと比べて 10 倍以上も高いオーランチオキトリウムの培養株の発見により、有機廃水処理プロセスと藻類バイオマス生産の統合化という新たな研究へ発展しつつあることから、H23 年度ではオーランチオキトリウムの特性を把握するための研究を加えた。また、H21 年度の補正予算でバイオマスエネルギー資源開発システムが認められたことで、藻類バイオマスに関わる施設・設備が整備され、藻類・エネルギーシステム研究拠点ができたことが本課題の推進に大きく貢献した。したがって、試験プラントやデモプラントについては、当初小規模スケールで検討していたが、H21 年度補正予算により中規模のスケールで実施できることとなったことで、自前で設計・建築することとなった。稼動するまで時間と労力がかかり、研究の進捗がおくれたが、おくれたとはいえ、低コスト・省エネの培地の開発、プラスチックバックの適用性を明確にしたこと、野外培養での最適なプラントの厚み(深さ)を明確にし、増殖量・増殖速度を把握するなど、貴重なデータが得られた。H24 年度より検討予定のエネルギー・コスト収支に関するモデルについては、H23 年度より着手した。反面、2011 年 3 月 11 日の大震災により、実験室が破壊され、プラスチックバックシステムによるデモプラント実験やメタボローム解析等必要な実験研究の中断を余儀なくされた。スケールアップした屋内外でのボトリオコッカス培養技術については、かなりの労力、予算額がかかることが判明したため、H24 年度からは CREST での成果をもとに、つくば国際戦略特区で発展的に展開することとした。

§ 3 研究実施体制

(1)「生物学」グループ1

①研究参加者

| 氏名 | 所属 | 役職 | 参加時期 |
|-------|---------------------------------|------------|--------------|
| 渡邊 信 | 筑波大学生命環境系 | 教授 | H20.10～H24.3 |
| 白岩善博 | 筑波大学生命環境系 | 教授 | H20.10～H24.3 |
| 井上 勲 | 筑波大学生命環境系 | 教授 | H20.10～H24.3 |
| 鈴木石根 | 筑波大学生命環境系 | 准教授 | H20.10～H24.3 |
| 石田健一郎 | 筑波大学生命環境系 | 准教授 | H20.10～H24.3 |
| 中山 剛 | 筑波大学生命環境系 | 講師 | H20.10～H24.3 |
| 田辺雄彦 | 筑波大学生命環境系 | 助教 | H20.10～H24.3 |
| 平川泰久 | 筑波大学生命環境系 | 研究員 | H21.4～H22.3 |
| 中澤 敦 | 筑波大学生命環境系 | 研究員 | H21.4～H23.3 |
| 新家弘也 | 筑波大学生命環境系 | 研究員 | H22.4～H23.3 |
| 辻 敬典 | 筑波大学生命環境系 | 研究員 | H22.4～H23.3 |
| 本多大輔 | 甲南大学理工学部 | 准教授 | H20.10～H24.3 |
| 馬場将人 | 筑波大学生命環境系 | リサーチアシスタント | H21.4～H24.3 |
| 藤田朋宏 | 筑波大学産学リエゾン共同研究センター／(株)ネオモルガン研究所 | 研究員／取締役 | H20.10～H24.3 |
| 平林征四郎 | 筑波大学産学リエゾン共同研究センター／(株)バイオウイング | 研究員／取締役 | H20.10～H21.3 |
| 野口美恵子 | 筑波大学生命環境系 | 研究補助員 | H22.4～H24.3 |
| 楠田恵美 | 筑波大学生命環境系 | 技術補佐員 | H22.4～H23.3 |
| 米澤夏岐 | 筑波大学生命環境系 | 研究員 | H22.5～H23.3 |
| 福澤秀哉 | 京都大学 | 准教授 | H22.9～H24.3 |
| 加藤美砂子 | お茶の水女子大学 | 准教授 | H22.9～H24.3 |

| | | | |
|------|-----------|-------|-------------|
| 市川里美 | 筑波大学生命環境系 | 技術補佐員 | H23.1～H24.3 |
| 高野スー | 筑波大学生命環境系 | 技術補佐員 | H22.4～H23.3 |

②研究項目

「最適増殖・オイル生産に導く培養基盤技術と高度品種改良技術の開発」

- ・有用機能をもつボトリオコッカス等新規野生株の分離培養及び特性評価(従属栄養性藻類)
- ・研究基盤となる培養センターの確立と管理
- ・光合成・増殖・オイル生産の最適培養条件の明確化
- ・増殖・オイル生産を制御する内的因子の探索と作用機序の解明

(2)「生物学」グループ2

①研究参加者

| 氏名 | 所属 | 役職 | 参加時期 |
|-------|---------|---------------------|--------------|
| 中嶋信美 | 国立環境研究所 | 室長 | H20.10～H24.3 |
| 河地正伸 | 国立環境研究所 | 主任研究員 | H20.10～H24.3 |
| 田野井孝子 | 国立環境研究所 | NIES アシスタント フェロー | H21.2～H21.7 |
| 五百城幹英 | 国立環境研究所 | NIES アシスタント フェロー | H20.10～H24.3 |
| 出村幹英 | 国立環境研究所 | 高度技能専門員 | H21.10～H24.3 |

②研究項目

「最適増殖・オイル生産に導く培養基盤技術と高度品種改良技術の開発」

- ・有用機能をもつボトリオコッカス等新規野生株の分離培養及び特性評価(光合成藻類)
- ・ボトリオコッカス等オイル産生藻類・従属栄養性原生生物に関する特性情報のデータベース化
- ・ボトリオコッカスの自然界における大量増殖機構の解明
- ・増殖・オイル生産を制御する内的因子の探索と作用機序の解明
- ・野生株の品種改良

(3)化学グループ

①研究参加者

| 氏名 | 所属 | 役職 | 参加時期 |
|-------|-----------|-------|--------------|
| 彼谷 邦光 | 筑波大学生命環境系 | 教授 | H20.10～H24.3 |
| 末永 智一 | 東北大学大学院 | 教授 | H20.10～H21.3 |
| 細矢 憲 | 東北大学大学院 | 教授 | H20.10～H24.3 |
| 佐野 友春 | 国立環境研究所 | 主任研究員 | H20.10～H24.3 |

| | | | |
|-------|-----------|--------|--------------|
| 久保 拓也 | 東北大学大学院 | 助教 | H20.10～H24.3 |
| 松浦 裕志 | 筑波大学生命環境系 | 研究員 | H21.4～H24.3 |
| 小瀬 良治 | 筑波大学生命環境系 | 非常勤研究員 | H21.4～H24.3 |

②研究項目

「オイル等産生物の高度利用技術の開発」

- ・オイルの抽出・精製法の開発
- ・産生物の物理化学的特性把握
- ・産生物の高度利用法の開発

(4)工学グループ1

①研究参加者

| 氏名 | 所属 | 役職 | 参加時期 |
|------|---------------------|--------|--------------|
| 志甫 諒 | 筑波大学 | 研究員 | H20.10～H24.3 |
| 藤岡知夫 | (財)応用光学研究所 | 理事長 | H20.10～H22.3 |
| 後藤敏彦 | (財)応用光学研究所 | 研究員 | H20.10～H22.3 |
| 武藤樹紀 | (財)応用光学研究所 | 客員研究員 | H20.10～H22.3 |
| 鄭 和翊 | (財)応用光学研究所 | 客員研究員 | H20.10～H22.3 |
| 山口 滋 | (財)応用光学研究所 | 客員研究員 | H20.10～H22.3 |
| 奥田俊郎 | (株)三和農林 | 研究員 | H20.10～H24.3 |
| 力久信介 | 巴工業株式会社 | 主事 | H20.10～H24.3 |
| 井出正広 | 巴工業株式会社 | 課長 | H20.10～H22.3 |
| 大橋一彦 | (株)日鉄技術情報センター | 主席研究員 | H20.10～H24.3 |
| 森岡幹雄 | (株)日鉄技術情報センター | 主席研究員 | H20.10～H22.3 |
| 浦田尚男 | (株)三菱ケミカルホールディングス | 部長 | H20.10～H22.3 |
| 田中 章 | (株)三菱地球快適化インスティテュート | 主任研究員 | H20.10～H24.3 |
| 坂倉良男 | 筑波大学 | 非常勤研究員 | H20.10～H22.4 |

| | | | |
|-------|---------|-------|--------------|
| 渡邊 翔 | 筑波大学 | 研究補助員 | H21.1～H22.3 |
| 永久保雅夫 | (株)デンソー | 主任研究員 | H20.10～H24.3 |

②研究項目

「試験プラント・デモプラントによる工業化技術開発」

- ・試験プラント施設建設(開放系・閉鎖系)(工学グループ1)
- ・デモプラント施設建設(工学グループ1)
- ・各種環境下(栄養塩類、日照条件)によるプラント運転・最適化(工学グループ1)
- ・各種モニターパラメータの確定と計測(工学グループ1)
- ・藻類工学特有の分離技術の工学的確立(工学グループ1)
- ・大規模プラント概念設計

(5)工学グループ2

①研究参加者

| 氏名 | 所属 | 役職 | 参加時期 |
|------|-----------------------|----|--------------|
| 堀岡一彦 | 東京工業大学大学院総 合理工学研究科 | 教授 | H20.10～H24.3 |

②研究項目

「試験プラント・デモプラントによる工業化技術開発」

- ・多種類微生物系の生態学的発展形体のモデル化

§ 4 研究実施内容及び成果

4-1. 最適増殖・オイル生産に導く培養基盤技術と高度品種改良技術の開発

4-1-1. 有用機能をもつボトリオコッカス等新規野生株の分離培養及び特性評価

4-1-1-1. 従属栄養性藻類(筑波大学 生物学グループ1):オイル生産性ラビリンチュラ類の新規株についてのスクリーニングと培養条件検討

(1) 研究実施内容および成果

オイル生産性従属栄養藻類であるラビリンチュラ類について、沖縄のマングローブ林を中心に、東京湾、ベトナムの各地よりサンプルを得、150以上の培養株を確立した。ナイルレッド染色の結果、多くの株で著しいオイル蓄積が認められ(図 1)、培養実験によるオイル含量とバイオマスの比較により、高オイル産生株が絞られた。TLC および HPLC 分析の結果より、高価値炭化水素であるスクアレンを多く産生する株が得られた(表 1)、特に 18W-13a(図 1)(分子系統解析の結果より *Aurantiochytrium* sp.と同定)が培養体積当たりのスクアレン生産量が最も多く、有望株と認められた(発表原著論文 20、出願特許国内 2、海外 1)。

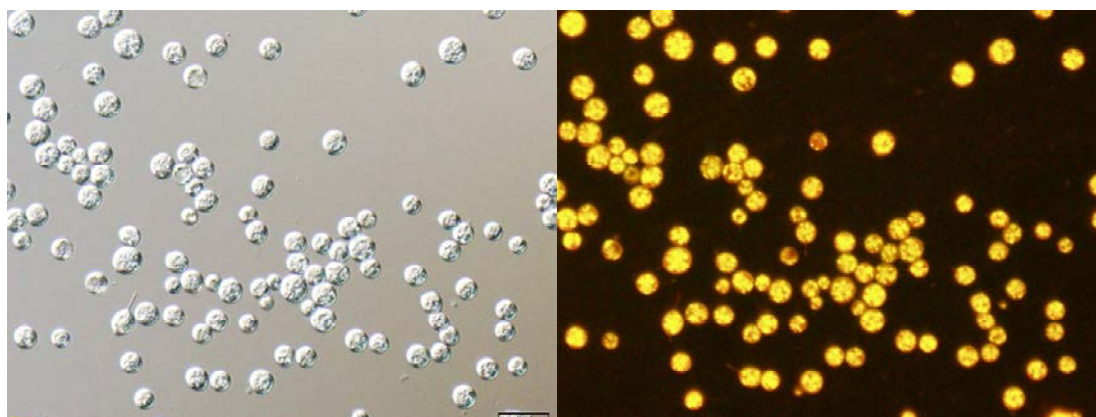


図 1. トリテルペン炭化水素スクアレンを産生する *Aurantiochytrium* 18W-13a。左より光学顕微鏡像、ナイルレッド染色によって脂質が黄色く輝いて見える蛍光顕微鏡像。

表 1. トリテルペン炭化水素スクアレンを産生するラビリンチュラの培養株

| 株名 | 増殖量(乾燥重量 g/L) | スクアレン含量 (mg/g) | スクアレン生産量 (mg/L) |
|---------|------------------|-------------------|--------------------|
| 16-1c | 3.2 | 203.9 | 654.5 |
| 6W-20a | 3.7 | 188.1 | 692.1 |
| AR-4a | 2.4 | 316.6 | 772.6 |
| 6M-7a | 3.0 | 100.2 | 301.6 |
| 18W-13a | 5.0 | 173.7 | 863.3 |

高価値炭化水素スクアレン産生株である *Aurantiochytrium* 18W-13a 株の含有するスクアレン量は、それまで報告のあったラビリンチュラ類を含むオイル産生性微生物の産生するスクアレン量の数百倍に及ぶものであった(例えば *Aurantiochytrium* sp. BR-MP4-A1 を用いた Chen et al. 2010 の研究では、最適培養条件でのスクアレン量は 0.72mg/g, 5.90mg/litter である)。18W-13a 株を 25℃、海水濃度 50%、グルコース濃度 2%で培養すると 3~4 日目で増殖の静止期にはいり、バイオマス量とスクアレン含量は最大に達し、8 日目、12 日目には次第に減少していく(表 2、図 2)(発表原著論文 20)。18W-13a 株は 10-35℃で増殖し、倍加時間は 10℃で 23 時間、15℃で 6.4 時間、

20℃で 3.7 時間、25℃で 3.1 時間、30℃で 1.9 時間、35℃で 9.7 時間であった(図 3a)。スクアレン生産効率は温度 25℃、海水濃度 25%(約 9‰塩分)、グルコース 2%でもっとも高かった(図 3b～d) (発表原著論文 11)。オーランチオキトリウム 18W-13 株はトリテルペン炭化水素含量が 20%とボトリオコッカス(32-50%)よりも低い、1g/L～2g/L にかけての増殖速度(3.1 時間)はボトリオコッカスのそれ(10 日)より 77 倍も速く、炭化水素生産効率は少なくとも 30 倍は高いと見積もられた。

このほかに DHA を生産する *Aurantiochytrium* の増殖と脂質生産の最適条件を明らかにしたこと(発表原著論文 1)、およびボトリオコッカス(以下 *Botryococcus*)とバクテリアの相利共生株を確立したことができた(発表原著論文 2、国内出願特許 5)。

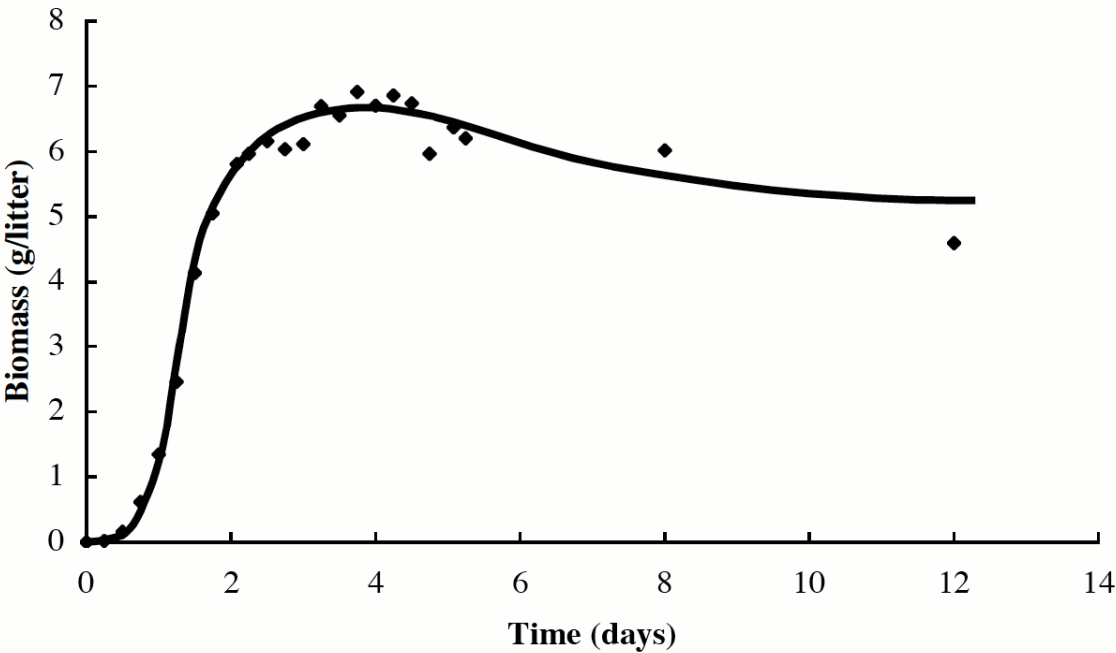


図 2. *Aurantiochytrium* 18W-13a の増殖曲線(温度 25℃、海水濃度 25%、グルコース濃度 2%)

表 2. 18W-13a 株の培養期間におけるバイオマスとスクアレン量の変化

| 培養日数 | バイオマス (g/L) | 全脂質量 (g/L) | スクアレン量 (g/L) | スクアレン含量 (mg/g) 平均 |
|-------|-------------|-------------|--------------|-------------------|
| 4 日目 | 6.5 ± 0.3 | 3.90 ± 0.22 | 1.29 ± 0.13 | 198 |
| 8 日目 | 5.5 ± 0.3 | 1.53 ± 0.21 | 1.04 ± 0.18 | 189 |
| 12 日目 | 5.2 ± 0.5 | 1.29 ± 0.36 | 0.89 ± 0.15 | 171 |

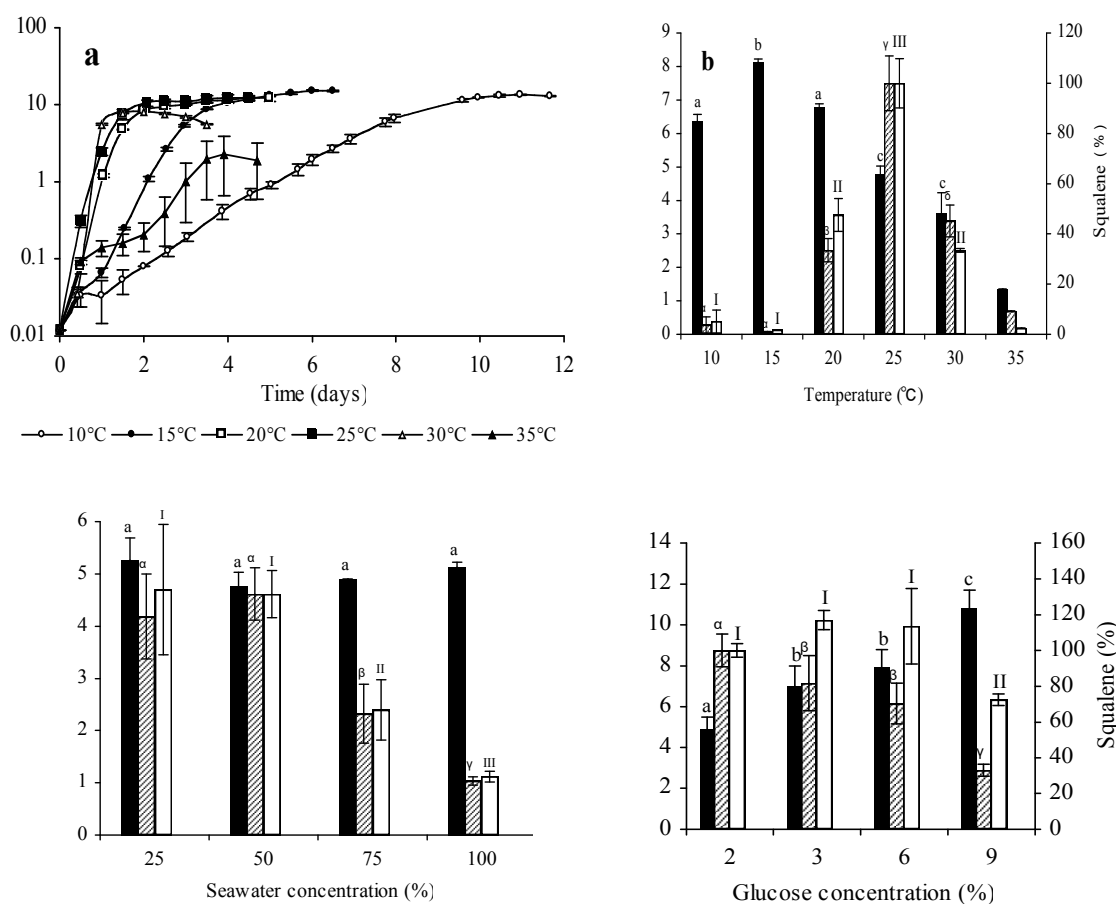


図 3. *Aurantiochytrium* 18W-13a の各温度における増殖量とスクアレン量に及ぼす影響(b, c, d)。■:バイオマス増殖量、▨:スクアレン量、□:培養体積あたりのスクアレン量相対値

(2) 研究成果の今後期待される効果

炭化水素を産生する藻類として、*Aurantiochytrium* の培養株をスクリーニング。本株のスクアレンの炭化水素を生産し、その生産効率はボトリオコッカスより一桁高い。その最適温度、塩分、グルコース濃度を明らかにした。これらの成果はオーランチオキトリウムとボトリオコッカスの生産を水処理プロセスに統合して行うことを目的とする新たな展開を拓いた。

4-1-1-2. 光合成藻類(国立環境研究所 生物学グループ2):有用機能をもつ *Botryococcus* 等新規光合成野生株の分離培養及び特性評価

(1) 研究実施内容および成果

沖縄県、茨城県、千葉県、青森県、海外(ミャンマー、タイ、ベトナム)等のダムや湖沼、沿岸環境で試料を採取し、選択培養条件下(高アルカリ培地、塩分含有培地、高温・高塩濃度条件など)で培養を行い、増殖細胞のオイル生産をナイルレッド蛍光染色で確認して、増殖能とオイル生産能に優れた細胞を選別し、有望株について、その基本特性を調べた。これまでに *Botryococcus* を 104 株、他のオイル産生株を 9 株確立した。これらの増殖特性調査から、比増殖速度が 0.15 以上の *Botryococcus* が 7 株、その他のオイル産生株の中には最大比増殖速度が 3.23 に達する株(GOD-10 株)も得られた。また炭化水素の化学分析用試料として 16 株を供与した。しかし、*Botryococcus* を以外の藻類はすべてトリグリセリドを蓄積するもので、これまで発表されたトリグリセリド蓄積藻類と比べて特段すぐれた特性を示すものはなかった。

Botryococcus が優占するダム湖においてほぼ 2 ヶ月おき、約 1 年間にわたって環境条件、*Botryococcus* の存在量と遺伝的多様性の変動について調査した。ボトリオコッカスはアオコと比べて窒素濃度が相対的に少ない湖沼で発生すること、春～夏期の温度成層が発達するときに優先することが判明した。また、ボトリオコッカスの存在密度が高くなる状態において、遺伝的多様性が低くなるケースと高くなるケースが確認された。低い遺伝的多様性を示すサンプルでは、環境に適応した特定の遺伝型のみが増殖し、高い遺伝的多様性を示すサンプルでは様々な遺伝型が一斉に増殖した可能性が考えられた(発表原著論文 3)

(2) 研究成果の今後期待される効果

ボトリオコッカスの大量発生環境が判明できたことで、野外の開放系での *Botryococcus* の生産にむけて貴重な知見がえられたと考えられる。

4-1-2. 研究基盤となる培養センターの確立と管理(筑波大学 生物学グループ1)

(1) 研究実施内容および成果

10L規模での培養を行ない、各研究チームの要請に応じて培養試料を提供することを目的とした。平成20-22年秋にかけては、筑波大学産学リエゾン共同研究センターの実験室にセットされた8 m²の培養庫での10 L培養およびその横に設置された300 Lのドーム型培養器と30 Lの円筒型培養器並びに筑波大学プロジェクト棟に設置された20 m²の培養庫での10 L培養により、ボトリオコッカスが大量に培養され、平成22年度には1か月1トン規模での培養試料の提供が可能となり、要請に応じた提供をおこなってきた。平成22年の10月からは、平成21年度の補正予算で建設された藻類・エネルギーシステム国際研究拠点(図 4)に2カ所に分散していた培養センターをまとめ、3人の委託技師により集中的に管理するシステムが構築され、1ヶ月で3トンの培養試料提供が可能となった。



図4. 藻類・エネルギー研究拠点と設置されたフォトリアクター

(2) 研究成果の今後期待される効果

本課題が CREST に採択されたことで筑波大学でも非常に注目され、H21 年度の補正予算にバイオマスエネルギー資源開発システムとして必要な施設・設備が整備された。これに伴い、大学からもシステムの管理運営にかかわる予算的なサポートが得られ、初計画では想定されていなかった展開となった。これにより、後述するように室内 10 L 培養～200 L～屋外 300 L～1.2トン～2トンまでの試験プラントそしてデモプラントへと一体化した生産システムが構築された。このセンターはつくば国際戦略特区での藻類プロジェクトなど今後の新たな大規模プロジェクトでも大きな役割を果たすこととなる。

4-1-3. *Botryococcus* 等オイル産生藻類・従属栄養性原生生物に関する特性情報のデータベース

化(国立環境研究所 生物学グループ2)

(1)研究実施内容および成果

データベースの基本設計を行い(H20 年度)、*Botryococcus* 等オイル産生藻類・従属栄養性原生生物に関する既存の情報を収集し(H20～H21 年度)、新たに取得した情報・データ含めてオイル産生藻類・従属栄養性藻類の特性情報データベースを構築することを目的としておこなった(H23 年度)。その結果、これまでに収集した 45 件のサンプル情報と地理情報について Google マップ上で地点名とサンプリング日を記載し、Web 上から閲覧可能な状態にした。また株名や単離情報、培養情報、オイル分析結果などを記載できるフォーマットを作成し、これまでに確立した 103 株の *Botryococcus* とオイル産生藻類培養株・従属栄養藻類に関する情報を登録した。更にボトリオコッカス株の系統と品質管理のために、*Botryococcus* 74 株の 18S rRNA 遺伝子配列を遺伝的タグ情報として決定し、新たな株情報として登録を行った。

(2) 研究成果の今後期待される効果

構築されたデータベースは本 CREST プロジェクトにとどまらず、今後展開するプロジェクトでも活用される。

4-1-4. 光合成・増殖・オイル生産の最適培養条件の明確化(筑波大学 生物学グループ1)

(1)研究実施内容および成果

Botryococcus の最適培養条件を明確化し、増殖と炭化水素生産能力を最大限に引き出すことを目的として、多様な培養条件下で *Botryococcus* の光合成活性、生育速度、炭化水素蓄積量を定量的に測定することで、オイル生産に最適な条件を明らかにした。その結果、*Botryococcus* BOT-144 株において、A) AF-6 培地成分の 1-5 倍の変化は、増殖速度に全く影響せず、培地成分が必要十分であること；B) 培地中窒素源の枯渇は増殖を阻害すること；C) 至適温度が 30℃であるが、40℃でも生育するという高温耐性であることで特許申請をおこなった(出願特許国内 3、海外 2)。さらに D) 至適 pH が 5.01-9.15 の範囲に広く存在すること；E) 光合成活性を飽和させる光強度は比較的高く($400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、それは増殖が飽和する光強度($40 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)とは一致しないこと(図 5)；F) 光波長により増殖が飽和する光量は異なることを明らかにした。さらに、G) 増殖速度は、赤色(660 nm)光照射下($60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)で最大光利用効率を得ること；H) 光波長の違いは増殖速度や色素組成、コロニー形状に影響するが、代謝経路や光合成装置自体には影響しないこと；I) 全脂質中の炭化水素割合は、緑色光照射細胞(40%)で低下し、

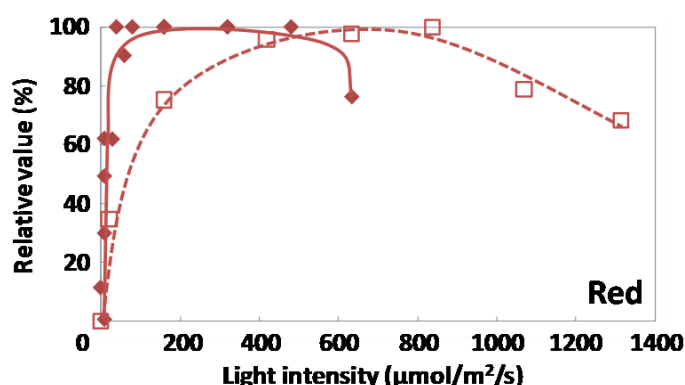


図 5. 光強度が増殖速度および光合成活性に及ぼす影響(光源:赤色 LED)

青、赤色光照射細胞(50%)で増大することを明らかにした(発表原著論文 10.12)。新規単離株 BOT-22 を用いて、J)炭化水素は暗条件下でも消費されず、安定的に蓄積されること；K)赤色光では、炭化水素生産は糖生産や光合成よりも低光強度で飽和すること；L)グルコースを添加することにより *Botryococcus* の増殖が促進されることを明らかにした(発表原著論文 21)。

(2) 研究成果の今後期待される効果

Botryococcus 野生株の増殖を飛躍的に向上させるためには、培養条件の最適化のみならず、代謝改変による全炭素固定量の増加が必須であることを明確にした。また、炭化水素生産量の向上のためには、炭素フローの制御により炭化水素生産系の改良が必要であることが明確になり、本研究項目の目的をさらに高い水準で達成するために、安定的形質転換系の作出が不可欠であるとの実証を得た。このことから後述するように炭化水素代謝を律速する経路とそれに関わる遺伝子の特定および遺伝子導入系の開発が非常に重要な技術開発課題となることが明確となった。

4-1-5. 増殖・オイル生産を制御する内的因子の探索と作用機序の解明(筑波大学 生物学グループ 1、国立環境研究所 生物学グループ 2)

(1)研究実施内容および成果

増殖・オイル生産を制御する内的因子の探索と作用機序の解明を行うことを目的として、放射性同位元素ラベルの $\text{CO}_2(^{14}\text{CO}_2)$ を基質として与え、*Botryococcus* による糖、脂質、タンパク質、低分子代謝化合物の生合成について、経時的变化を解析した(生物学グループ 1)。*Botryococcus* のうち脂肪酸由来の炭化水素オイルを生成する Race A 代表株(BOT 88-2 株)、トリテルペン由来の炭化水素オイルを生成する Race B 代表株(BOT 22 株、BOT 70 株)、それぞれにおいて発現している遺伝子の塩基配列を網羅的に解析し、オイル合成に関わる遺伝子の発現量を Real-time PCR 法でも定量することによりレース特異的なオイル合成遺伝子発現パターンを明らかにする実験をおこなった(生物学グループ 2)。

その結果、光合成により固定された ^{14}C の 70%は脂質の生合成に使用され、低分子代謝産物(20%)、タンパク質(8%)、多糖(2%)の割合は低いことを明らかとなった。当初、多糖合成活性が高く、多糖合成を抑制することが脂質、炭化水素合成量(速度)の向上に寄与すると予測していたが、そうではなく、光合成 CO_2 固定活性を向上させ、炭素インプット量(速度)を増大させることが、オイル生産量を向上させるための鍵であることを実験的に証明した。したがって、その方法を開発する必要性が明確になった。また、対数増殖期初期では $\text{NH}_4^{14}\text{CO}_3$ と $\text{L-[methyl-}^{14}\text{C]-methyonine}$ からの炭化水素合成が活発であったが、後期(培養 15 日目)にはいると、 $2\text{-}^{14}\text{C pyruvic acid}$ からの炭化水素合成が活発化した(生物学グループ 1)。

合計 40 万以上のリードをアセンブリングすることにより、BOT 88-2 株(race A)では 29,038 配列、BOT 22 株(race B)では 27,427 配列、BOT70 株(race B)では 1,868 配列の非重複配列を得た。これらのうち、BOT 88-2 株では 969 配列、BOT 22 株では 725 配列、BOT 70 株では 509 配列について、ホモロジー検索により遺伝子産物の機能を推定することが出来た。本研究で得られた塩基配列は、GenBank/EMBL/DDBJ database への登録により一般公開した。本研究で得られた全長 cDNA クローンおよび塩基配列情報は今後の研究のためのリソースとして有用である。オイル合成に関しては、race A 株では acyl-acp 伸長経路・超長鎖脂肪酸伸長経路を介したオイル合成経路が、race B 株では非メバロン酸経路を介したオイル合成経路が主要であることが明らかになった。これらの経路上で、race A、race B それぞれに関して 1 反応についてのみ酵素遺伝子の同定が出来なかったが、その他の反応に関しては酵素遺伝子の同定に成功した。これらの酵素遺伝子のレース特異的な発現パターンを解析することにより、race A 株では超長鎖脂肪酸伸長経路への基質流入が、race B 株では非メバロン酸経路・トリテルペン合成経路それぞれへの基質流入がオイル合成を律速していることが推定された(発表原著論文 13-16)(図 6, 7)(生物学グループ 2)。

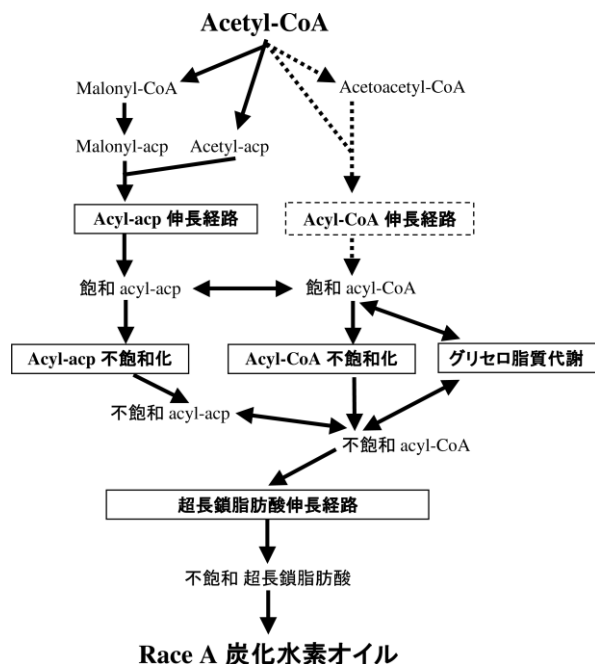


図 6

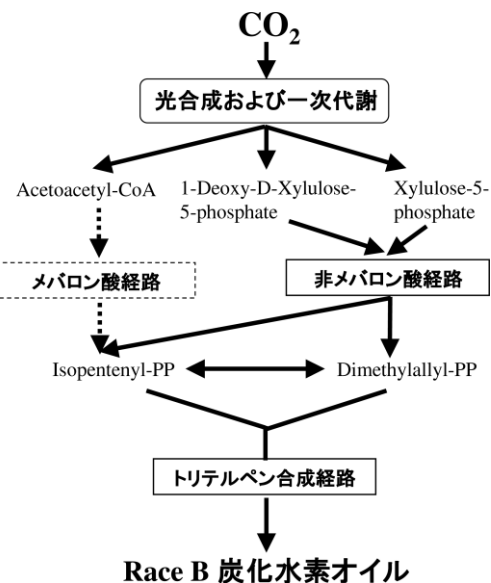


図 7

(2) 研究成果の今後期待される効果

EST 解析により、race A (アリカジエン、アルカトリエンおよびその派生物の炭化水素を生産) と race B (トリテルペノイドの炭化水素を生産) の炭化水素の代謝過程で律速となるプロセスと遺伝子を推定することができた。今後、メタボローム解析で律速となるプロセス遺伝子を確定し、遺伝子導入系の開発後には、律速となるプロセスや遺伝子を活性化する等遺伝子改変が可能となる。

4-1-6. 野生株の品種改良 (国立環境研究所 生物学グループ 2)

(1) 研究実施内容および成果

既存のアリカリ性・弱光増殖性株に紫外線照射や変異源物質を与えて突然変異を誘発させ、開放系での培養に適する変異株、海水で増殖する変異株、温度感受性の異なる変異株等の作成を行うことを目的とした。Botryococcus に DNA に変異を与える薬剤である EMS を 1% で 4 時間処理をおこなった。処理した細胞を選抜培地で選抜した。除草剤耐性株を選抜するために除草剤としてパラコートおよびグルホシネートを使用した。塩耐性株の選抜は、人工海水を通常濃度の 50% になるように培地に添加して選抜をおこなった。その結果、BOT88-2 株について除草剤パラコート耐性株が 34 株、除草剤グルホシネート耐性株を 17 株得た (図 8)。BOT 22 株については、除草剤パラコート耐性株が 21 株、除草剤グルホシネート耐性株の候補が 20 株得られた (発表原著論文 17)。BOT 88-2 株由来の除草剤耐性株の比増殖速度を調べたところ、パラコート耐性株では 34 株のうち 3 株は、野生型 BOT88-2 株を除草剤を添加せずに培養したときの比増殖速度と同程度の比増殖速度を示した。グルホシネート耐性株 17 株はいずれも野生型の BOT 88-2 株を除草剤を添加せずに培養したときの 50~70% の比増殖速度を示した。パラコート耐性株 9 株についてオイル含量を野生型の BOT 88-2 株と比較したところ、野生型と同じか上回るものが 3 株あった (図 9)。グルホシネート耐性株では調べた 9 株すべてにおいて野生型と同じか程度か上回っていた (図 9)。また BOT 22 株由来の除草剤耐性変異株については現在、比増殖速度を求めているが、1 株については、野生型の BOT 22 株を除草剤を添加していない培地で培養したときの比増殖速度と差がないことが明らかとなっている。

また、遺伝子組換え技術により新たな有用な特性をもった変異株を作成するために、遺伝子導入系の開発をこころみた。しかし、ショットガン法、エレクトロポレーション法での遺伝子導入はでき

ず、現在プロトプラスト化による遺伝子導入を検討している。

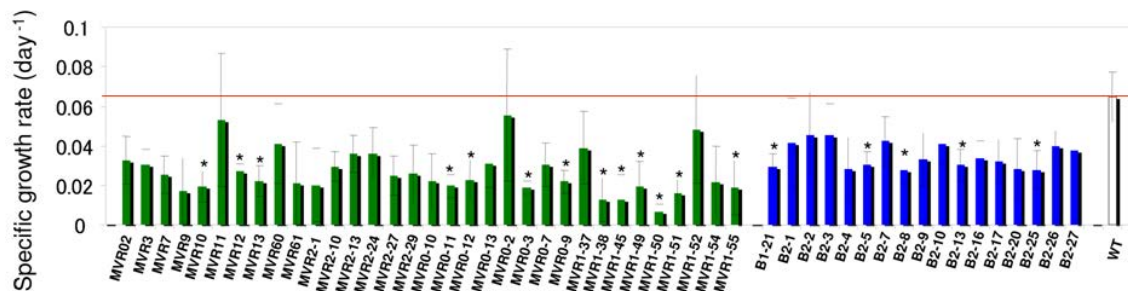


図 8

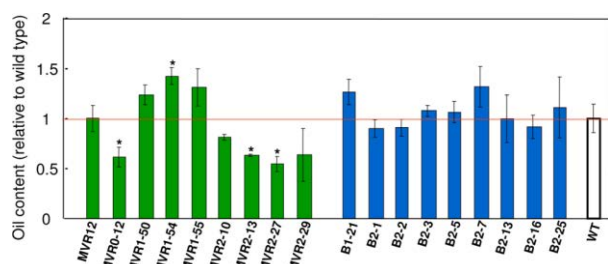


図 9

(2) 研究成果の今後期待される効果

*Botryococcus*を培養している際のコンタミを防ぐ目的で抗生物質を使用することを検討した。その結果、ボトリオコッカスはアンピシリンとセフトキシムに対して非常に強い耐性を示すことが明らかとなった。これは調べた3系統 (BOT 88-2株、BOT 22株、BOT 70株) に共通する性質であった。これらの抗生物質を培地にあらかじめ添加しておくことで、広い範囲のバクテリアの増殖を抑制することが可能となる。そして、除草剤耐性株を抗生物質と除草剤を添加した培地で培養すれば混入するバクテリアと藻類の増殖を抑制することが可能となり、開放系で培養できる可能性が広がった。

4-2. オイル等産生物の高度利用技術の開発

4-2-1. オイル抽出・精製法の開発 (筑波大学 化学グループ)

(1) 研究実施内容および成果

Botryococcus が産生するオイルの炭化水素は低極性物質であり、乾燥試料の場合は有機溶媒で容易に抽出できるが、乾燥には膨大な熱エネルギーが必要であるので乾燥工程を用いない抽出法の開発が必要である。また、抽出された炭化水素画分にはカロチノイド等の低極性化合物が混在するので、低コストの分離剤の開発が必要である。以上の観点から研究をおこない、乾燥をとわず、省エネルギーの抽出・精製技術の開発に成功した。

(2) 研究成果の今後期待される効果

今後の課題として、精製方法の低コスト化が上げられる。現在はシリカゲルを用いる方法であるが、より安価な分離剤の開発を目指す必要がある。

4-2-2. 産生物の物理化学的特性把握 (筑波大学 化学グループ、工学グループ 1)

(1)研究実施内容および成果

本課題は、抽出・精製された炭化水素の分子式、構造解析を行い、燃料としての可能性を提示することを目的としておこなった。

分離・精製した *Botryococcus* BOT 22 株の炭化水素の構造を解析するために、GC/MS、LC/TOF-MS、 ^1H および ^{13}C -NMR でスペクトルの測定を行った。GC/MS および ^1H 、 ^{13}C -NMR の解析から、BOT 22 株の精製炭化水素画分中の 94% は $\text{C}_{34}\text{H}_{58}$ 、分子量 466 の単一の構造を持つ炭化水素であった(発表原著論文 4)。このように、極めて純度の高い単一構造の炭化水素が得られることから、燃料以外の用途の開発の可能性があり、ラジカル重合やカチオン重合によって高分子化できることが明らかになった、また、不飽和結合を水素添加した飽和型炭化水素は温度に対して安定であり、 $-30\sim 200^\circ\text{C}$ 付近まで安定な液体であった。また、*Botryococcus* が産生する炭化水素はこれまでその構造に応じて、アルカジエン、アルカトリエン等を産生する race A、トリテルペノイドの炭化水素を産生する race B (図 10)、テトラテルペノイドのリコパデイエンの炭化水素を産生する race L の 3 つが報告されていたが、日本で新たに分離培養された *Botryococcus* をしらべた結果、1 原子の酸素を含む炭素数が 18 あるいは 19 のエポキサイドである race Sa、1 原子の酸素を含む炭素数が 40 の race La の 2 つが確認された(表 3)。日本のボトリオコッカスの各 Race の分布頻度をしらべたところ、race B がもっとも優先しており、それについて race Sa が多かった(図 11)。特に race Sa は炭素数が 18 あるいは 19 ということで軽油に相当する炭化水素であり、今後の軽油燃料としての利用が期待される。*Aurantiochytrium* から得られた炭化水素は、GC/MS、LC/TOF-MS、 ^1H 、 ^{13}C -NMR の解析からスクワレン($\text{C}_{30}\text{H}_{50}$)と同定した。この炭化水素は乾燥細胞の重量当たり 20% 含まれており、分離・精製も容易であった。スクワレンの分子内の二重結合を持ち(図 10)、ラジカル重合で高分子化が可能であった。オクタデシルベンゼンをスタンダードとしてスクアレンを定量化する手法が開発された(発表原著論文 5)。(以上化学グループ)

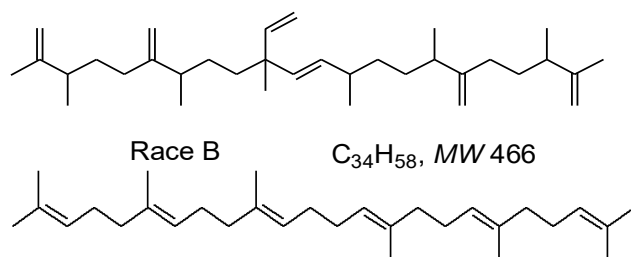
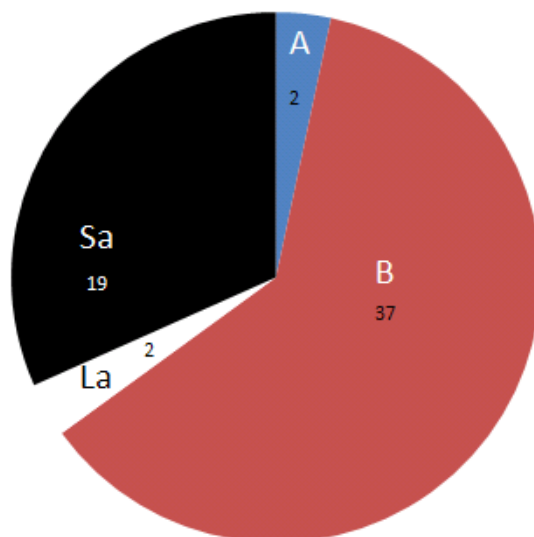


図10



| Strain No | H.C. content (% in algal DW) | Growth rate (μ /day) | Mol.Formula of the most abundant H.C. | Purity (%) of the H.C. |
|-----------|---------------------------------|------------------------------|--|---------------------------|
| 7 | 25.3 | 0.088 | C19H38O (Sa) mw=282 | 51 |
| 17 | 40.8 | 0.078 | C34H58 (B) mw=466 | 92 |
| 45 | 21.1 | 0.187 | C33H64 (A) mw=460 | 54 |
| 70 | 25.1 | 0.33 | C34H58 (B) mw=466 | 94 |
| 71 | 42.3 | 0.066 | C34H58 (B) mw=466 | 97 |
| 88-2 | 45.3 | 0.158 | C31H58 (A) mw=430 | 56 |
| 144 | 45.7 | 0.2 | C34H58 (B) mw=466 | 95 |
| 84 | 30.4 | 0.16 | C40H76O (La) | 42 |

Hydrocarbons were fractionated by a silica gel column using n-hexane as the elution solvent. T: terpene; A: alkene; E: alkane epoxide

表 4 *Botryococcus* と *Aurantiochytrium* が産生する炭化水素の燃料物性

| 炭化水素燃料 | 密度 (10^3 kg/m^3) | 表面張力 ($\times 10^{-3} \text{ N/m}$) | 動粘度 (cSt) |
|---|---------------------------------|--|--------------|
| <i>Botryococcus</i> $\text{C}_{34}\text{H}_{58}$ | 0.825 | 29.7 | 58.1 |
| <i>Aurantiochytrium</i> スクアレン $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$ | 0.852 | 32.9 | 15.3 |
| IFO380 大型船舶用重油 | 0.983 | 32.0 | 1,940 |
| 軽油 | 0.862 | 28.2 | 15.3 |

Botryococcus race B に属する BOT 22 の炭化水素 ($\text{C}_{34}\text{H}_{58}$)、*Aurantiochytrium* が産生する炭化水素スクアレン ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}$) の燃料物性を、大型船舶用重油の国際標準として使われている IFO380、そして軽油の燃料物性と比較した。*Botryococcus* と *Aurantiochytrium* の炭化水素の密度、動粘度は軽油に近く、表面張力については、*Botryococcus* の炭化水素は軽油に近く、*Aurantiochytrium* の炭化水素は重油にちかい(表)。炭素数からいうと *Botryococcus*、オーランチオキトリウム炭化水素は重油に相当するが、燃料物性は重油とはかなりことなり、むしろ軽油のほうに近い。特に *Botryococcus* の炭化水素は、密度、表面張力、動粘度のすべてにおいて、軽油に近い性質をもつことは注目すべきである。(発表原著論文 7) (以上工学グループ 1)

生物学的なブレイクスルーとしては、スクアレンを産生する *Aurantiochytrium* 18W-13a は高濃度のグルコース添加で飽和型脂肪酸のみを産生する現象が確認された(発表原著論文 6)。これは生物学的には新たな発見であり、その基礎メカニズムを解明することが重要である。

(2) 研究成果の今後期待される効果

Botryococcus が産生する炭化水素の構造と種類があきらかになり、日本ではトリテルペノイドである race B が優先することがわかった。*Aurantiochytrium* が産生するスクアレンもトリテルペノイドであり、ともに炭素数からみて重油相当であるが、燃料物性は軽油に近いことが判明した。Drop-in-fuel としての運輸燃料利用の可能性を高め、4-2-3 の燃焼実験へと発展した。

4-2-3. 生産物の高度御利用法の開発(筑波大学化学グループ、工学グループ 1)

(1) 研究実施内容および成果

主要生産物である炭化水素の高度利用法として、運輸燃料として直接利用可能かどうか検討するとともに、触媒クラッキングによるガソリン、ケロシン等の燃料への変換の可能性を検証するために実施した。また、培養液や細胞から得られる副産物については生理活性物質の探索を行った。

運輸燃料としての直接利用可能性については、自動車関連会社の協力で、高速圧縮装置を用いて、行った。炭化水素の触媒クラッキングについては石油精製会社の協力で水素化分解を行い、生成物の解析を行った。培養液および細胞からの生理活性物質については活性分画の精製を HPLC で、構造解析を GC/MS および NMR を用いて行った。

高速圧縮装置をもちいて *Botryococcus* の炭化水素の燃焼テストを、比較のコントロールとして軽油を使っておこなった。それぞれを圧縮空気と混合したものをスプレーで高速圧縮装置へ注入し、その燃焼状況を高速ビデオカメラをもちいて観察した。その結果、*Botryococcus* の炭化水素は軽油と比較して、1秒程度おくれたものの、まちがいなく爆発燃焼した(図 12)。以上のことから、*Botryococcus* 炭化水素 100%でも運輸用燃料として利用できることが示唆された。(工学グループ 1)

生理活性物質の探索として、抗酸化性物質の探索を行い、抗酸化能の高い、カロチノイドの一種、エキネノンが高収率で得られた(原著発表論文 19)。エキネンは老化防止剤、オレンジ食用色素、食品抗酸化剤としての用途が期待される。さらに *Botryococcus* が産生するトリテルペノイド

炭化水素は保湿効果があることが判明したことから、化粧品等の用途が期待される(国内特許出願 1)。また、老化防止に係る化合物レチノイン酸がえられた(化学グループ)

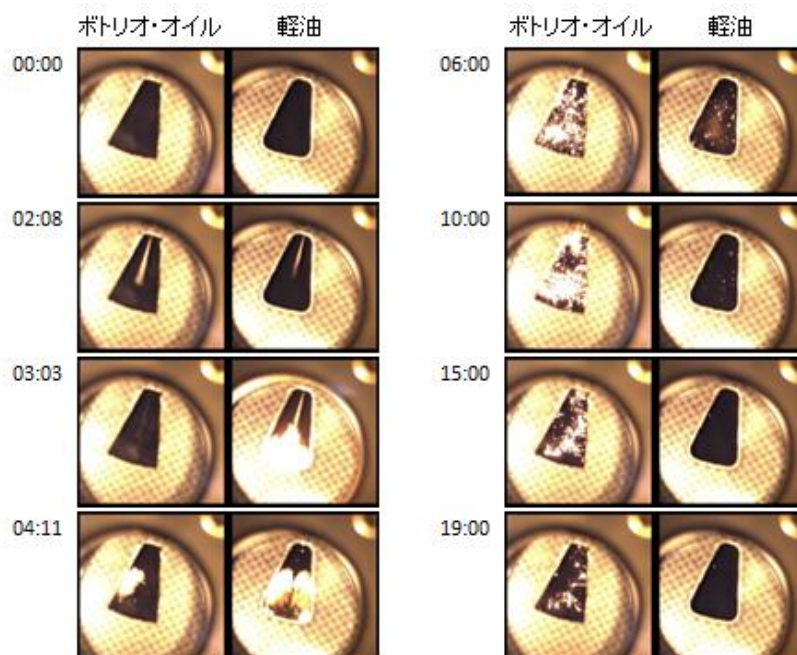


図 12 高速圧縮装置における *Botryococcus* 炭化水素と軽油の燃焼

(2) 研究成果の今後期待される効果

バイオ燃料の End-use 問題が解決できる可能性を拓いた。

4-3. 試験プラント・デモプラントによる工業化技術開発

4-3-1. 試験プラント施設建設(発表原著論文 8)(筑波大学工学グループ 1)

(1)研究実施内容および成果

試験プラントはデモプラントの最小単位として位置づけられるため、*Botryococcus* の培養生産、濃縮・収穫、炭化水素の抽出に最適なシステムやプラントの形状を確立することを目的として、室内 10L～屋外 2,000L の規模での試験プラントを設計・建設し、最適なプラント形状と材質について検討を行った。

当初は H20-H21 年度で試験プラントの建設をおえ、必要なデータを取得する計画にあったが、試験管・フラスコレベル～10L 以上の試験プラントでの実験は、安定した結果を得るまでに、予想以上の労力と時間がかかり H23 年度まで継続せざるを得ない状況となった。しかし、下記に示すような重要な知見を得、技術を確立することができた。

<形状について>

室内 10L 培養では定期的に窒素分を添加することにより、最大で乾燥重量 3.8g/L のバイオマスが得られた。しかし、1g/L から 2 g/L までの倍加時間は 22 日と非常におそい増殖速度であった(図 13)。フラスコ培養では最大で倍加時間が 2.4 日であったが、これと比べると約 8 倍にのびた。上部からの光照射であったため、光パスが長い(約 25cm)ことが原因の一つと思われた。しかし、80 日以上という長期間の培養にもかかわらず、窒素分を定期的に添加することで安定して増殖していくことが判明した。

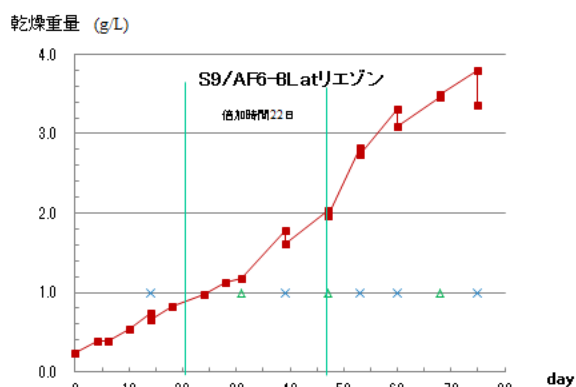


図 1 3

さらに光パスをより短くしたチューブ状の培養器(径 15cm)でもって、ボトリオコッカスを培養し、横からの光照射で培養した結果 1g/L から 2 g/L までの倍加時間は 12 日と短縮された(図 14)。したがって、屋外ではこのチューブ状培養器を基本としたシステムを作製することとし、既存のドーム型培リアクターと比較することとした。

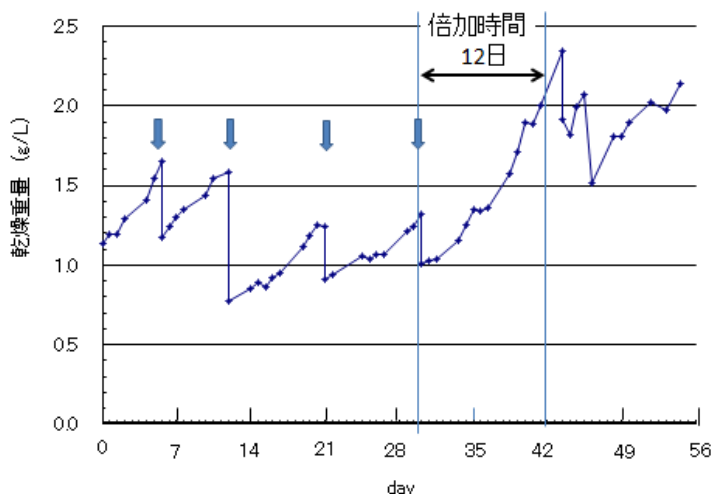


図 14 チューブ状のリアクターでの連続培養(室内)。矢印は、一部収穫し、収穫した分だけ培養液を添加したことを示す。

屋外では室内の結果をふまえ、チューブ状培養器 48 本からなるリアクターシステムを作製した。さらに *Haematococcus* の野外培養で活用されているドーム型培養器や NASA が作製した太陽追尾型リアクターも作製し、比較をおこなった。野外チューブリアクター(径 12cm、高さ 2m)で 1%CO₂ を含む空気で通気した。増殖量は最大で 3.8g/L となり、1g/L から 2 g/L までの倍加時間は 8 日に短縮した(図 15)。基本的には室内のチューブリアクターでえられた倍加時間より速くなったが、これは昼の温度が 30-35℃と *Botryococcus* の BOT-22 に最適な温度になったことによると思われる。

また、ドーム型リアクターでは、最大増殖量は 0.6g/L 以上にはならず(図 16)、0.3g/L から 0.6g/L までの倍加時間が約 16 日と長く、チューブ型と比べると生産効率が悪いといえる。

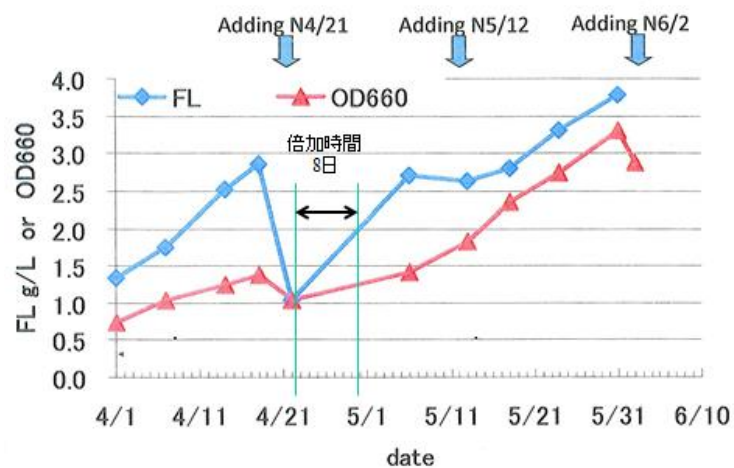


図 15. 野外チューブリアクターにおける *Botryococcus* の増殖(4 月 1 日～5 月 31 日:この期間における培養器水温は 10℃～37℃の間で変動)。矢印は、一部収穫し、収穫した分だけ培養液を添加したことを示す。

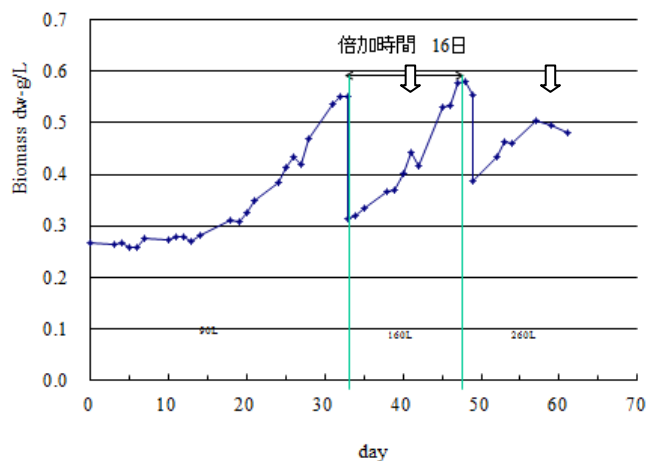


図16

NASA 型の太陽追尾装置があるリアクター(直径 25cm、高さ 4m)(図 17)には水温を制御するチラーユニットが装備され、藻類を含む培養液がリアクターとチラーユニットを循環し、チラーユニットのところで CO₂ が注入されるというシステムである。4 基を試験的に稼働させたが、増殖量は 0.4g/L 程度で生産効率は悪い。



図 1 7

<材質について>

タネ培養の基本となる10 L培養においては、ポリカーボネイト製のナルゲンボトルを使用している。また、チューブリアクター、ドーム型リアクター、NASA型リアクターもすべてアクリル樹脂を用いて作製したものである。アクリルはやや高価で、太陽光による劣化がおこることから、将来の実用化を考慮すると他の材質を検討する必要がある。実験のやりやすさから、10 L培養で使われるナルゲンボトルでの培養をコントロールとして、安価な(ナルゲンボトルの1/10の値段)ソフトプラスチックバックでのボトリオコッカスの培養を行った。その結果、ソフトプラスチックバックでの*Botryococcus*の増殖は、ナルゲンボトルでの増殖と全く変わらないことを明らかにした(図 18)。この結果から、安価なソフトプラスチックを材料としてスケールアップできることが示唆された。

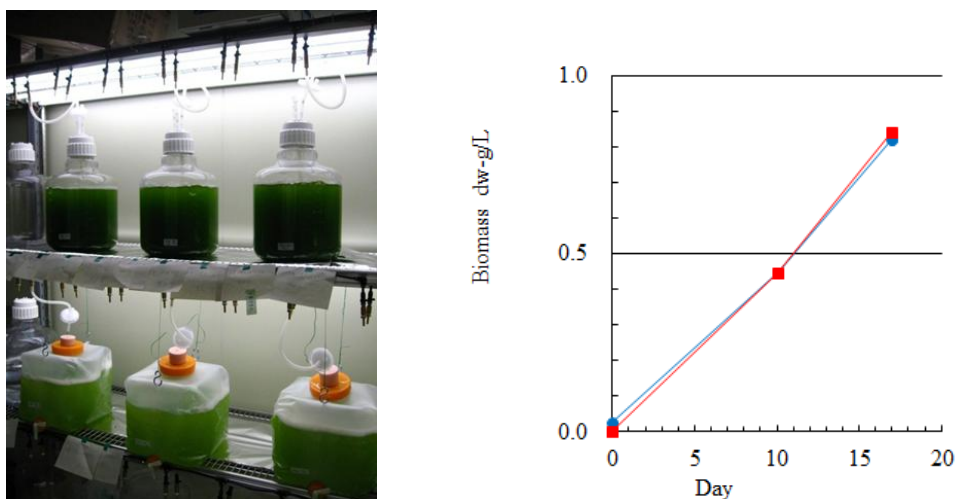


図18 ナルゲン製ボトル (Polycarbonate: 青ライン)とソフトプラスチックバック(Polyethylene: 赤ライン)における *Botryococcus* の増殖

(2) 研究成果の今後期待される効果

野外チューブリアクター(径12cm、高さ2m)が、もっとも生産効率がよいことが判明した。さらに冬季にはビニール温室では温度5℃～20℃の変動を示すが、そのような厳寒期でも、10-20日程度の倍加時間で増殖することから、1年中稼働する可能性が拓けたといえる。また、安価なソフトプラスチックバックで良好な増殖が得られたことから、本材料をつかってスケールアップできる可能性が拓けた。

4-3-2. デモプラント施設建設(筑波大学 工学グループ1)

(1)研究実施内容および成果

試験プラントでの実験・研究が長引くこと、震災により多くの実験設備が使えなくなったことから、デモプラントでの研究進捗は計画より遅れた。しかしながら、実験室や試験プラントで得られた知見・技術をもとに下記のような成果をあげることができた。実験室での試験管・フラスコレベルで得られた知見・技術および試験プラントで得られた知見・技術ならびに安価なソフトプラスチックバックで *Botryococcus* がよく増殖することが判明したことから、100 ミクロン厚程度のプラスチック膜体により、開放池と同等のコストと、閉鎖系と同等の対異種混入バリアー性能を有する大型培養装置の設計・制作をおこない、筑波大学に設置された屋外ブルー培養システムに設置し、正常な稼働が確認された。このシステムでの増殖実験は今後の課題として残る。

(2) 研究成果の今後期待される効果

デモプラントは震災影響もあって、研究の進捗状況はよくないが、プラスチックバックシステムが稼働できたことで、規模を拡大し、実証実験へ進む道筋がどうにかみえてきたといえる。

4-3-3. 各種環境下(栄養塩類、日照条件、通気)によるプラント運転・最適化(筑波大学工学グループ1)

(1)研究実施内容および成果

必要な栄養塩を含む培地は、実験室では人工培地を使うが、そのままにスケールアップしたプラントに適用すると、コスト・エネルギー消費が大きくなることから、低コストで栄養塩を与える方法・技術を開発すること、また、野外では昼夜のチェンジが起こることから、実験室のように増殖の効率性をあげるために連続光照射条件の設定は太陽光では不可能である。栄養塩類、日照条件および通気に焦点をあてて、藻類増殖に最適なプラント運転技術を開発することを目的として実施した。

既存の栽培植物用の安価な液体肥料および有機廃水の一次処理水の適用性を検討した。さらに夜間のLED照明の有効性について培養実験にて検討した。

実験室の限定された培養条件下でのボトリオコッカスの培養実験では成分が明確な人工培地AF-6培地を使用する。このAF-6培地のかわりに三和農林製スプラウト用肥料を1/1000に希釈したKAI培地(以下K培地)を使用した結果、AF-6培地と全く変わらない増殖を得ることができた(図19)(**発表原著論文 8**)。このことにより培地製造にかかるコスト・エネルギーが減少すると期待される。

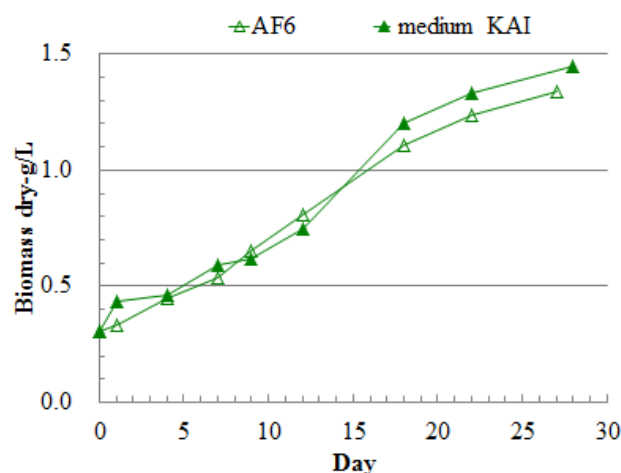


図 1 9

AF-6培地とK培地がともにボトリオコッカスBOT 22株の増殖にとって、非常によい培地であること、ボトリオコッカスはグルコース添加により増殖およびオイル生産が促進されることが判明したことから(**発表原著論文 21**)、よりエネルギー収支の効果をあげるために、有機廃水の利用性について調べた。基本無機培地(AF-6)をコントロールとして、大豆廃水を様々な濃度になるように調製した培地で42日間培養し、増殖速度・最終的なバイオマス量および炭化水素生産量をコントロールと比較することで、有機廃水の効果を検討した。その結果、大豆廃水を1-2%(v/v)添加した培地で、最も良い藻体重量および培養液あたりの炭化水素含量が得られることが明らかとなった(図20,21)。コントロールと比較して藻体重量は大豆廃水2%で最も高く2.2倍(2.92 g/L)に増加した。細胞あたりの炭化水素含量は廃水濃度によってほとんど変わらなかった。しかし、藻体重量の増加に伴って培養体積あたりの炭化水素含量が増加し、大豆廃水2%では最も高く696.3 mg/Lであり、これはコントロールの約2倍であった。大豆廃水5%では増殖速度はコントロールを下回ったものの、最終的な藻体重量はコントロールを上回ったために、培養液あたりの炭化水素含量も1.2倍(429.3 mg/L)に増加した(**発表原著論文 18**)。この効果はコントロールとして、K培地をつかっても確認された。

夜間のLED照明の有効性については、実験室レベルで確認することができたが、100~200 μ mol/m²/secの低照度での実験であり、野外での有効性については今後の課題である。また、CO₂

通気についてはマイクロバブルのほうが藻類の増殖に効率的であることが試験プラントであきらかとなった。

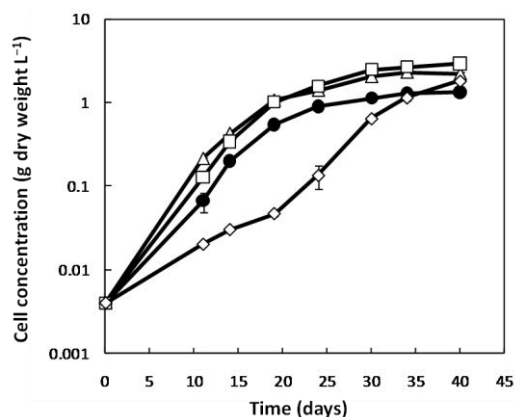


図 20. 様々な濃度の大豆廃水(v/v)を利用した *Botryococcus braunii* BOT-22 株における増殖曲線 ●, 大豆廃水 0%(control); △,大豆廃水 1% □, 大豆廃水 2%; ◇, 大豆廃水 5%

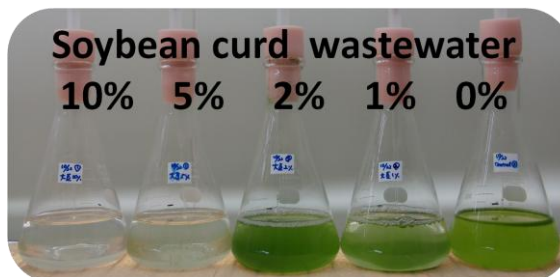


図 21. 培養 13 日目の写真

(2) 研究成果の今後期待される効果

安価な K 培地の開発、そして大豆廃水(原水)が 2%分ボトリオコッカスの培養に利用できることがあきらかとなったことで、培地作製にかかるエネルギー消費と経費を減少させることができると期待される。

4-3-4. 各種モニターパラメータの確定と計測

(1) 研究実施内容および成果

藻類生産の適切な管理を可能とするためのモニタリング手法を開発することを目的とし、温度、光、降雨等の微気象条件、水温、pH、粘度、藻類量測定器などのオンラインモニター系を設置するために必要な項目と手法について検討した。

その結果、H21 年度の補正予算で建設された藻類・エネルギーシステム国際研究拠点に、微気象観測・モニターの機器が設置され、オンラインでモニターすることができている。また、藻類バイオマス量については、定期的なサンプリングによる OD の測定、培地中の窒素、リン、有機物等の変動については、テクニコンのオーロアナライザー、TOC 計、Q-TOFF Mass をつかってモニターする体制を確立した。

(2) 研究成果の今後期待される効果

基本的には個別の培養器に水温、pH、溶存酸素、酸化還元電位はオンラインで自動的にモニターする技術は確立されたものがあるが、今回の成果はそれぞれ独立した数十個以上のユニットからなるシステムに対してモニターするシステムを作ったことである。さらにスケールアップしたときに、どのように効果的に組み入れていくかが今後の大きな課題である。

4-3-5. 藻類工学特有の分離技術の工学的確立(筑波大学 工学グループ1)

(1) 研究実施内容および成果

藻類は培養体積中で 0.05%~1%程度の濃度で増殖していることから、藻類を培地から効率的に分離する方法を確立することを目的として、従来の凝集沈殿法、遠心分離法、濾過法よりコスト・エネルギー収支および環境配慮の点ですぐれていると思われる浮上分離法と化学グループが確立

した濾布式遠心濃縮法の適用性を検討した。

ボトリオコッカスは浮上する性質をもつため遠心法では回収できないものが多い。さらに濾過法は大規模培養ではコストがかかるという欠点がある。凝集沈殿法では塩化鉄等の陽イオンで凝集し沈殿するが、多量の鉄分を含んだ廃水をどう処理するかが問題となる。浮上分離法としてマイクロバブルを用いてボトリオコッカスを浮上させ、濃縮・回収する方法であり、もう一つはボトリオコッカスが浮上する性質を生かして、浮上するコロニーだけを収穫し、のこりを培養へ返すという方法である。前者については、マイクロバブルのバブルサイズを $5\mu\text{m}$ 以下にすることでボトリオコッカスを浮上させることができたことで特許出願にいったが(国内特許出願 4)、現実的にはエネルギーをかなり消費する方法である。

また、化学グループにより確立された濾布式遠心濃縮法は、短時間でバイオマスのほとんどを濃縮・回収することができた(図 22)。遠心分離法よりもエネルギー消費が少ないといわれている方法であることから、スケールアップしたときにどのような効果があるか検証してみる必要がある。



図22

(2) 研究成果の今後期待される効果

今回の成果は、エネルギーやコスト消費が少ない濃縮・収穫技術開発の可能性を高めたことで、より一層のすぐれた濃縮・収穫技術の開発が期待される。

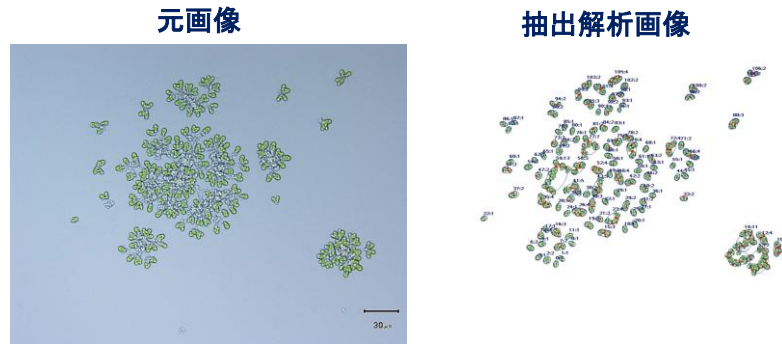
4-3-6. 多種類微生物系の生態学的発展形体のモデル化(東京工業大学 工学グループ 2)

(1)研究実施内容および成果

屋外大規模プラント内で起きると予想される他種類の微生物群よりなる系の増殖のメカニズムをモデル化し、プラント方程式として定式化し、将来のプラント運転のための指針を作ることを目指して、流体解析、拡散解析、非線形微分方程式などの手法を統合し、当該藻類の各種育成諸条件を反映したプラント運転用ソフトの作成をおこなった。藻類生態系のモデリング、成長影響因子と制御因子の検討、およびシミュレーションのための基礎方程式の検討を行い、基本的な連立微分方程式を導出するとともに、成長率、環境容量、成長飽和の条件、他種類微生物との競合、擾乱に対する当該微生物の成長過程の頑健さなどを予測するための因子として、ミネラル成分濃度と循環量、炭酸ガスと酸素濃度、pH 値、液温度、光量、などについて検討した。また、微生物群の成長過程を定量的に観測するためには、微生物個体の形状変化や個体群の集群などの影響を規格化して成長過程を観測する必要があることがわかった。ガウス分布平均、背景削除、二値化、楕円近似などの基本概念に基づいた画像処理プログラムを開発した(図 23)。このプログラム動作性能の確認をおこない、ほぼ数種類以上の藻類の混合系の振る舞いを表現できることを確認した。また、生物学グループ、化学グループおよび試験プラントでの成果をもとに、エネルギー収支、コスト収支を評価するためのコンセプトモデルを作成した(発表原著論文 9)。

培養実験定量化のための 画像解析ソフトの概念

基本概念： ガウス分布平均、背景削除、二値化、楕円近似



培養実験の定量化と自動化によるモデリングと収率のスケーリング

図 2 3

(2) 研究成果の今後期待される効果

多種藻類が混入したときの挙動を予測するための基本的なモデルができたことで、将来いつどのような状況でどのような制御をおこなえばいいのか、を明確にすることが可能となることが期待される。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 3 件、国際(欧文)誌 22 件)
国際(英文)誌

1. Nakazawa, A., Matsuura, H., Kose, R., Kato, S., Honda, D., Inouye, I., Kaya, K. and Watanabe, M.M. (2012) Optimization of biomass and fatty acid production by *Aurantiochytrium* sp. strain 4W-1b. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
2. Tanabe, Y., Kato S., Matsuura, H. and Watanabe, M.M. (2012) A *Botryococcus* strain with bacterial ectosymbionts grows fast and produces high amount of hydrocarbons. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
3. Demura, M., Kawachi, M., Koshikawa, H., Nakayama, T., Mayuzumi, T. and Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2012) Genetic succession of *Botryococcus braunii* (Trebouxiophyceae) in Japanese two reservoirs. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
4. Ishimatsu, A., Matsuura, H.), Sano, T., Kaya, K. and Makoto M. Watanabe. (2012) Biosynthesis of isoprene units in the C₃₄ botryococcene molecule produced by *Botryococcus braunii* strain Bot22. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
5. Matusura, H., Watanabe, M.M and Kaya, K. (2012b) Squalene quantification using octadecylbenzene as the internal standard. *Procedia Environmental Sciences* , accepted
6. Matsuura, H., Nakazawa, A., Honda, D., Watanabe, M.M. and Kaya, K. (2012a) Bio-rearrangement of the fatty acid composition of triglycerides produced by a thraustochytrid, *Aurantiochytrium* as a source of biodiesel oil. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
7. Nagano, S., Yamamoto, S., Nagakubo, M., Atsumi, K. and Watanabe, M.M. (2012) Physical properties of hydrocarbon oils produced by *Botryococcus braunii* with special reference to the density, kinematic viscosity, surface tension, and distillation properties. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
8. Shimamura, R., Watanabe, S., Sakakura, Y., Shiho, M., Kaya, K. and Watanabe, M.M. (2012) Development of seed culture system of *Botryococcus* for future mass culture. *Procedia Environmental Sciences*, accepted
9. Shiho, M., Kawachi, M., Horioka, K., Nishita, K., Ohashi, K., Kaya, K. and Watanabe, M.M. (2012) Business evaluation of an oil production system with green micro-algae *Botryococcus braunii*. *Procedia Environmental Sciences*, accepted

10. Sakamoto, K., Baba, M., Suzuki, I., Watanabe, M.M. and Shiraiwa Y. (2012) Optimization of light for growth, photosynthesis, and hydrocarbon production by the colonial microalga *Botryococcus braunii* BOT-22. *Bioresource Technology* 110, 474-479
11. Nakazawa, A., Matsuura, H., Kose, R., Kato, S., Honda, D., Inouye, I., Kaya, K. and Watanabe, M.M. (2012) Optimization of culture conditions of the thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. strain 18W-13a for squalene production. *Bioresource Technology* 109, 287-291
12. Baba, M., Kikuta, F., Suzuki, I., Watanabe, M.M. and Shiraiwa, Y. (2012a) Wavelength specificity of growth, photosynthesis, and hydrocarbon production in the oil producing green alga *Botryococcus braunii*. *Bioresource Technology* 109, 266-270
13. Baba, M., Ioki, M., Nakajima, N., Shiraiwa, Y. and Watanabe, M.M. (2012b) Transcriptome analysis of an oil-rich Race A strain of *Botryococcus braunii* (BOT88-2) by de novo assembly of pyrosequencing cDNA reads. *Bioresource Technology* 109, 282-286
14. Ioki, M., Baba, M., Shiraiwa, Y., Watanabe, M.M. and Nakajima, N. (2012) Transcriptome analysis of an oil-rich race B strain of *Botryococcus braunii* (BOT22) by de novo assembly of pyrosequencing cDNA reads. *Bioresource Technology* 109, 292-296
15. Ioki, M., Baba, M., Nakajima, N., Shiraiwa, Y. and Watanabe, M.M. (2012) Transcriptome analysis of an oil-rich Race B strain of *Botryococcus braunii* (BOT70) by de novo assembly of 5'-end sequences of full-length cDNA clones. *Bioresource Technology* 109, 277-281
16. Ioki, M., Masato Baba, M., Nakajima, N., Bidadhi, H., Suzuki, I., Shiraiwa, Y. and Watanabe, M.M. (2012) Modes of hydrocarbon oil biosynthesis revealed by comparative gene expression analysis for Race A and Race B strains of *Botryococcus braunii*. *Bioresource Technology* 109, 271-276
17. Ioki, M., Ohkoshi, M., Nakajima, N. and Watanabe, M.M. (2012) Isolation of herbicide-resistant mutants of *Botryococcus braunii*. *Bioresource Technology* 109, 300-303
18. Yonezawa, N., Matsuura, H., Shiho, M., Kaya, k. and Watanabe, M.M. (2012)

Effects of soybean curd wastewater on the growth and hydrocarbon production of *Botryococcus braunii* strain BOT-22. *Bioresource Technology* 109, 304-307

19. Matsuura, H., Watanabe, M.M. and Kaya K. (2011) Echinenone production of a dark-red coloured strain of *Botryococcus braunii*. *J. Appl. Phycol.* doi 10.1007/s10811-011-9719-7
20. Kaya, K., Nakazawa, A., Matsuura, H., Honda, D., Inouye, I. and Watanabe, M.M. (2011) Thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. 18W-13a Accumulates High Amount of Squalene. *BioScience, Biotechnology, and Biochemistry* 75, 2246-2248
21. Kaya, K., Shiraishi, F., Uchida H. and Sano, T. A novel retinoic acid analogue, 7-hydroxy retinoic acid, isolated from cyanobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta General Subject*, Volume 1810, Issue 4, April 2011, Pages 414–419
22. Tanoi, T., Kawachi, M. and Watanabe, M.M. (2011) Effects of Carbon Source on Growth and Morphology of *Botryococcus braunii*. *J. Appl. Phycology* 23, 25-33

国内(和文)誌

1. 河地正伸, 笠井文絵 (国立環境研) (2011). 微細藻類の系統保存. 水環境学会誌, 34(4):103-107.
2. 渡邊 信(筑波大) (2009) 藻類によるバイオ燃料生産の展望、環境技術 38 巻 3 月、160-164 (2009)
3. 渡邊 信(筑波大) (2010) 藻類バイオマスエネルギー技術の課題と展望. 日本機械学会誌 113 (1098):32-35

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

国際(英文)誌・書籍

1. Watanabe, M.M. and Tanabe, Y. (2012) Biology and industrial potential of *Botryococcus braunii*. In *Handbook of Microalgal Culture, 2nd Edition* (Richmond and Hu, eds). Wiley-Blackwell, Oxford, UK., Chapter 18, in press.
2. Watanabe, M.M., Inouye, I., Shiraiwa, Y., Shiho, M. and Kaya, K. (all: U. Tsukuba) (2010) A pioneer of the new algae economy in Spotlight on Tsukuba. **Nature** Vol.468, No.7321 (11 November 2010).

国内(和文)誌・書籍

1. 彼谷邦光(筑波大) (2011) オイルをつくる微細藻類オーランチオキトリウム 養殖、607, 29-32
2. 渡邊 信 (筑波大)(2010) 石油を生み出す藻?!—ボトリオコッカスの重油生産メカニズムと今後の期待、化学 65 巻 2010 年 12 月
3. 渡邊 信(編) (筑波大)(2010) 新しいエネルギー 藻類バイオマス みみずく舎／医学評論

4. 志甫 諒(筑波大)(2010) 1-1 二酸化炭素削減対策の動向, 1-7; 2 バイオマスエネルギーの現状, 23-51 ; 5-1 藻類集団の増殖の数理, 163-172; 5-2 フォトバイオリクター, 174-178; 5-3 開放系システム, 178-184. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス(渡邊 信 編). みみずく舎」
5. 大橋一彦 (新日鉄エンジニアリング) (2010) 1-2 各国のエネルギー需給動向, 7-14. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
6. 堀岡一彦 (東工大) (2010) 1-3 日本のエネルギー動向, 14-21. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
7. 井上 勲(筑波大) (2010) 3-1-a 藻類とは, 52-59. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
8. 中山 剛(筑波大) (2010) 3-1-b 藻類の系統, 59-67. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
9. 石田健一郎(筑波大) (2010) 3-1-c 藻類の細胞構造, 67-76. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
10. 彼谷邦光(筑波大) (2010) 3-1-d 藻類の構成成分, 76-80; 6-2 オイルの種類, 192-200; 8 藻類オイルおよびその他の成分の利用, 250-252. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
11. 白岩善博(筑波大) (2010) 3-1-e 光合成, 80-96; 3-1-g 藻類の増殖特性, 101-106. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス(渡邊 信 編). みみずく舎」
12. 渡邊 信(筑波大) (2010) 3-2 エネルギー資源としての微細藻類の潜在, 106-110; 3-3 藻類バイオマス利用の国内外の研究開発—過去と現在—, 110-122; 総論—美s代藻類のオイル含有量, 126-128; 7-3 ボトリオコッカスのライフサイクルアセスメント, 243-248; おわりに—将来の展望と夢—253-258. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
13. 河地正伸, 田野井孝子 (国立環境研)(2010) 4-2-a. *Botryococcus braunii*. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
14. 中山剛(筑波大) (2010) 4-2-b *Naonochloropsis*, 136-139. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
15. 石田健一郎(筑波大) (2010) 4-2-c *Neochloris oleabundans*, 139-140. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
16. 平川泰久(筑波大) (2010) 4-2-d *Phaeodactylum*, 140-143. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
17. 田辺雄彦(筑波大) (2010) 4-2-e *Dunaliella*, 143-145. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」

18. 本多大輔 (甲南大) (2010) 4-2-f *Aulantiochytrium limacunum*, 145-150. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
19. 中澤 敦 (筑波大) (2010) 4-2-g *Chlorella*, 150-153. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
20. 河地正伸 (国立環境研) (2010) 4-2-h. *Pseudochoricystis ellipsoidea*, 153-157. 新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎. 153-157. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
21. 松浦裕志 (筑波大) (2010) 6-1 オイルの抽出, 189-192 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
22. 鈴木石根 (筑波大) (2010) 6-3-a トリグリセリド, 202-208; 6-3-b トリテルペノイド, 208-212. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
23. 中嶋信美 (国立環境研)、平川泰久 (筑波大)、五百城幹英 (国立環境研) (2010) 6-3-d 緑藻のオイル代謝に関わる遺伝子 210-223. 「新しいエネルギー 藻類バイオマス (渡邊 信 編). みみずく舎」
24. 彼谷邦光 (筑波大) (2010) 微細藻類オイルの化学 (特別企画総説) *Microbiol. Cult. Coll.* 26, 1-10 (2010)
25. 渡邊 信 (筑波大) (2010) クリーンな藻類エネルギー開発 21 世紀の環境とエネルギーを考える 43 巻 2010 年 7 月
26. 渡邊 信 (筑波大) (2009) 藻類バイオマスの高度利用技術、触媒年鑑 (2009)

(3) 国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 26 件、国際会議 11 件)
(国際会議)

1. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2011) Hydrocarbon-producing algae: their potential as a fossil-oil alternative. 6th Asian Pacific Phycological Forum, 9-14 October, 2011 at Yeosu, Korea
2. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2011) Current Status of Researches on Hydrocarbon-Producing Microalgae. 2011 International Workshop on Microalgal Biofuel Technology, 26 August at Taipei
3. Watanabe, M.M., Kaya, K. and Inouye, I. (U.Tsukuba) (2011) Hydrocarbon-producing algae, *Botryococcus* and *Aurantiochytrium* as alternative sources of fossil oil. 1st International Conference on Algal Biomass, Biofuels & Bioproducts, 17-20 July 2011 at Westin St Louis, USA
4. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2010) Does *Botryococcus* open up a new vista of the future as an alternative oil source? KSBB Spring Meeting and International Symposium. April 15-16, 2010 Kyungwon University, Korea.
5. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2010) *Botryococcus*: its potential as an alternative oil

resource for our future. 4th Algae Biomass Summit in Arizona, September 28-30, 2010 Phoenix, Arizona, USA

6. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2010) Perspectives of *Botryococcus*-based energy R & D. Second China-Korea Joint Seminar-Progresses on preservation and exploitation of microbial and algae. October 19-21, 2010 Wuhan, China.
7. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2010) *Botryococcus braunii*: Future alternative resource for fossil oil. International Symposium on Bioenergy from hydrosphere. Nov.11, 2010 Chonnam National University, Korea
8. Suzuki, I. and Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2009) *Botryococcus* Potential for biofuel production, Algae World Asia 2009, Bangkok, 29 Sep-1 Oct. 2009
9. Shiraiwa, Y., Kaya, K. and Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2009) Fixation of CO₂ and Production of Biomass, Biofuel and Biominerals by Microalgae, The International Algae Congress 'Performance and potential of phototrophic Aquaculture -Microalgae, Cyanobacteria and Microcrops', Hamburg, Germany, Dec. 1-2, 2009
10. Watanabe, M.M. (U.Tsukuba) (2008) Utilization of algae for liquid fuel production, 4th Asia Pacific Phycology Forum, Nov.11-14, 2008, Wellington, New Zealand
11. Shiho, M. (Inst. Optics) (2008) 「National research project for mass cultivation of oilproducing *botryococcus* in Japan」, World Algae Congress 2008, Amsterdam, Netherland, 2-4 December 2008

(国内会議)

1. 渡邊 信 (筑波大) (2011) 藻類バイオマス ～日本を産油国へ・夢に向かって～ 東北経済連合会「環境・資源エネルギー」講演会 仙台国際ホテル、仙台、7月29日
2. 渡邊 信 (筑波大) (2011) 藻類バイオマスと人類の未来。バイオマス変換触媒研究会。高知大学 2011年7月1日
3. 渡邊 信 (筑波大) (2011) 藻類バイオマスエネルギーの展望。人工光合成研究講演会。東京理科大学森戸記念館、東京、6月22日
4. 渡邊 信 (筑波大) (2011) 日本油化学会セミナー。油脂工業会館、東京、6月17日
5. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類エネルギー技術開発の展望 新エネルギー部会講演会「次世代エネルギーシステムの構築に向けてー低炭素エネルギー供給への挑戦」 2010年10月14日 国立オリンピック記念青少年総合センター、東京
6. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 炭化水素産生緑藻類 *Botryococcus* の多様性 生物工学会シンポジウム「物質生産ルールとしての微細藻ー電子指向型バイオテクノロジー(eーバイオ) 起点とする藻類工学の夜明け 2010年9月29日 宮崎
7. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類:未来の石油代替資源 160委員会第9回研究会 2010年9月9日 メルパルク京都、京都
8. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 緑藻類ボトリオコッカスの有機排水利用性と産生オイルの特性

化学工学会環境部会シンポジウム 9月7日、京都

9. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類ボトリオコッカス～未来の石油代替資源 NPO 法人近畿バイオインダストリー振興会議バイオマス研究会公開セミナー 2010年8月26日 大阪
10. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類バイオマスエネルギーによる低炭素社会実現への挑戦 第81回ニューフロンティア材料部会例会 大阪 2010年7月
11. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類エネルギー技術による低炭素社会実現への挑戦 第5回よこはまバイオマス研究会 横浜 2010年6月7日
12. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類エネルギー技術開発の展望 新エネルギー部会講演会「次世代エネルギーシステムの構築に向けてー低炭素エネルギー供給への挑戦」10月14日 国立オリンピック記念青少年総合センター、東京
13. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類:未来の石油代替資源 160委員会第9回研究会 2010年9月9日 メルパルク京都、京都
14. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 緑藻類ボトリオコッカスの有機排水利用性と産生オイルの特性 化学工学会環境部会シンポジウム 9月7日、京都
15. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類ボトリオコッカス～未来の石油代替資源 NPO 法人近畿バイオインダストリー振興会議バイオマス研究会公開セミナー 2010年8月26日 大阪
16. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類バイオマスエネルギーによる低炭素社会実現への挑戦 第81回ニューフロンティア材料部会例会 大阪 2010年7月
17. 渡邊 信 (筑波大) (2010) 藻類エネルギー技術による低炭素社会実現への挑戦 第5回よこはまバイオマス研究会 横浜 2010年6月7日
18. 渡邊 信 (筑波大) (2009) 藻類を利用した持続的環境保全、新資源生物変換研究会シンポジウム、東京、2009年12月21日
19. 志甫 諒 (筑波大) (2009) 世界のオイル産生微細藻類の開発動向 講習会:藻類のバイオ燃料化の研究開発動向とビジネス展望(技術情報センター)、東京 2009年12月9日
20. 志甫 諒 (筑波大) (2009) Forecast about future energy. 三菱快適研究所開所セミナー、東京 11月
21. 渡邊 信 (筑波大) (2009) 藻類によるバイオ燃料生産の展望、化学技術戦略推進機構資源分科会、東京、2009年11月10日
22. 渡邊 信 (筑波大) (2009) 藻類からのバイオ燃料製造技術と展望 再生可能エネルギーフォーラム2009 大阪インテック 10月21日
23. 彼谷邦光 (筑波大) (2009) トキシンからバイオ燃料までー藻類二次代謝の世界ーアジレント創立10周年記念VIPセミナー特別講演(2009年9月3日幕張ホテルマンハッタン)
24. 河地正伸(国立環境研)(2009) 炭化水素を産生する緑藻 *Botryococcus*ーその基礎から応用

ー シンポジウム「微細藻ー生理、生態から大量培養までー」第 12 回マリンバイオテクノロジー学会大会、早稲田大学(東京)、2009 年 5 月 30 日

25. 渡邊 信 (筑波大) (2008) 石油代替資源としての藻類の高度利用 エネルギー懇話会 2008 年 12 月 東京

26. 渡邊 信 (筑波大) (2008) 藻類による石油資源創造 SMBC 環境ビジネスフォーラム 2008 年 12 月 東京

① 口頭発表 (国内会議 16 件、国際会議 14 件)
(国際会議)

1. Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Research project on sophisticated utilization of alkaliphilic strains of oil-producing green alga, *Botryococcus*. The 1stAsia-Oceania Algae Innovation Summit, Dec.13.14, 2010 Tsukuba, Japan
2. Kunimitsu Kaya (U. Tsukuba), Atsushi Nakazawa (U. Tsukuba), Hiroshi Matsuura (U. Tsukuba), Ryoji Kose (U. Tsukuba), Daisuke Honda (U. Konan), and Makoto M. Watanabe (U. Tsukuba) (2010), “A highly squalene-accumulating strain of thraustochytride *Aurantiochytrium* sp.” The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, P3-6, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
3. Shiraiwa, Y (U. Tsukuba) (2010). Importance of a cosmopolitan marine unicellular calcifying alga, *Emiliania huxleyi*. The 1stAsia-Oceania algae Innovation Summit, Dec.13.14, 2010 Tsukuba, Japan
4. Baba, M. (U. Tsukuba), Ioki, M.(NIES), Nakajima, N. (NIES), Shiraiwa, Y (U. Tsukuba) and Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Modes of liquid hydrocarbon biosynthesis in *Botryococcus braunii* revealed by gene expression analysis. The 1stAsia-Oceania Algae Innovation Summit, Dec.13.14, 2010 Tsukuba, Japan
5. M.Shiho (U. Tsukuba), M.Kawachi(NIES), K.Horioka (TIT), Y.Nishita (JPIB), K. Kaya (U. Tsukuba)and M.M.Watanabe (U. Tsukuba) (2010) “Business evaluation of an oil production system with the green micro-algae *Botryococcus*”, The 1stAsia-Oceania Algae Innovation Summit, Dec.13.14, 2010 Tsukuba, Japan
6. Yoshihiro Shiraiwa , Fumie Kikuta, Kunimitsu Kaya, and Makoto M. Watanabe (U. Tsukuba) (2010) CO₂ Sequestration and the Production of Biofuels by Freshwater Microalga *Botryococcus braunii*. The 7th International Symposium on Inorganic Carbon Utilization by Aquatic Photosynthetic Organisms (CCM7). Awaji-shima, Japan, Aug. 29-Sept. 2010 (Oral)
7. Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Utilization of the green alga, *Botryococcus braunii* as a renewable source of liquid fuel. The 5th Germany-Japan Binational Seminar From photoreaction to biomass:phototrophs in ecosystems and biotechnology, 3-7 June 2009, Tsukuba
8. Kaya, K. (U. Tsukuba) (2010) Hydrocarbons produced by Japanese *Botryococcus*.(Symposium on Biofuel) International Phycology Congress 9th (6th Aug. 2009, Tokyo)
9. Watanabe, M.M.(U. Tsukuba), Tanoi, T.(NIES), Kawachi, M.(NIES) and Kaya, K.(U. Tsukuba) (2010) Biofuel production by *Botryococcus* (Symposium on Biofuel)

International Phycological Congress 9th, (6th Aug. 2009, Tokyo)

10. Kaya, K. (U. Tsukuba) (2010) Possibility of algal lipids as industrial ingredients, Tsukuba, 3E International Forum. (Aug. 8th , 2009 at Tsukuba international Hall)
11. Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Japanese activities for algal fuel researches. Japan-Netherlands Seminar in Tokyo, Algae for Sustainability, 26-27 October 2009, Tokyo
12. Shiho, M. (Inst. Optics) (2010) Microalgae and world energy demand. Japan-Netherlands Seminar in Tokyo, Algae for Sustainability, 26-27 October 2009, Tokyo
13. Inouye, I. (U. Tsukuba) (2010) Algae as a driving force of co-evolution of life and global environment. Japan-Netherlands Seminar in Tokyo, Algae for Sustainability, 26-27 October 2009, Tokyo
14. Kaya, K. (U. Tsukuba) (2010) A prospect of utilization of algal lipids for fuel oil, The third Asian Symposium on Plant Lipids. (Nov. 28th , 2009 at Yokohama)

(国内会議)

1. 馬場将人(筑波大・生命環境)、五百城幹英(国立環境研)、中嶋信美(国立環境研)、白岩善博(筑波大学)、渡邊信(筑波大学) (2010) オイル産生緑藻 *Botryococcus braunii* のコドン使用頻度解析、東京大学(駒場)、2011/9/17-19
2. 田辺雄彦、加藤将、松浦裕志、渡邊信(筑波大学) (2011) オイル産生藻類 *Botryococcus braunii* と共生する細菌の発見、日本藻類学会第 35 回大会、富山、2011 年 3 月 28 日
3. 出村幹英(国立環境研)・河地正伸(国立環境研)・黛裕介(筑波大)・渡邊信(筑波大)、(2011) 自然水界における *Botryococcus braunii* のコロニー密度と遺伝的多様性の季節変動。第 35 回日本藻類学会 富山 2011 大会、富山大学、2011 年 3 月 27 日
4. 渡邊 信(筑波大) (2010) 炭化水素産生藻類～未来の石油代替資源～ 第1回筑波大学研究成果発表フォーラム 2010-IMAGINE THE FUTURE. 未来構想大学を目指す最先端研究の展開一、2010 年 12 月 1 日 東京
5. 五百城 幹英、中嶋 信美(国立環境研)(2010) トランスクリプトーム解析によるオイル産生緑藻ボトリオコッカスのオイル生合成機構の解明 I、第 51 回大気環境学会年会 大阪大学、2010 年 9 月 9 日
6. 五百城 幹英、中嶋 信美 (国立環境研)(2010) トランスクリプトーム解析によるオイル産生緑藻ボトリオコッカスのオイル生合成機構の解明 II、第 51 回大気環境学会年会、大阪大学、2010 年 9 月 9 日
7. 松浦裕志(筑波大)、佐野友春(国立環境研)、本多大輔(甲南大)、渡邊信(筑波大)、彼谷邦光(筑波大) (2010) ラビリンチュラ類 *Aurantiochytrium limacinum* SR21 株の脂質分析。第 24 回海洋生物活性談話会、広島、2010 年 6 月 5 日
8. 彼谷邦光、松浦裕志、渡邊 信(筑波大) (2010) 炭化水素をつくる緑藻 *Botryococcus braunii* 第 24 回海洋生物活性談話会、広島、2010 年 6 月 5 日

9. 渡邊 信(筑波大) (2010) 藻類エネルギー開発の重要性と必要性 第34回日本藻類学会公開シンポジウム「未来を拓く藻類エネルギー」, つくば, 2010年3月21日
 10. 河地正伸(国立環境研)・渡邊 信(筑波大) (2010) 炭化水素を産生する藻類ボトリオコッカス 第34回日本藻類学会公開シンポジウム「未来を拓く藻類エネルギー」, つくば, 2010年3月21日
 11. 菊田芙美江、坂本幸平、馬場将人、鈴木石根、渡邊 信、白岩善博(筑波大) (2010) 緑藻 *Botryococcus braunii* の炭化水素生産能の向上に関する最適化条件の検討 日本藻類学会第34回大会、つくば、3月 (2010)
 12. 馬場将人、菊田芙美江、鈴木石根、渡邊 信、白岩善博(筑波大) (2010) ボトリオコッカスの光合成・代謝に対する光波長の影響 筑波大学TIC研究会、筑波大学アイソトープセンター、3月 (2010)
 13. 渡邊 信 (2010) 微細藻類による大規模石油生産の展望 応用物理学会「エネルギー環境研究会企画シンポジウム 人工光合成を中心とした自然エネルギー利用の実現へ向けて」東海大湘南キャンパス 3月19日 (2010)
 14. 渡邊 信 (2010) 未来の石油代替資源としての藻類バイオマス 日本農芸化学会「化学と生物シンポジウム」 東大弥生会館、3月26日 (2010)
 15. 渡邊 信(筑波大) (2009) 再生エネルギー資源としての藻類 かずさDNA研究所研究会「ラン藻の分子生物学 2009」 千葉県木更津、2009年12月5日
 16. 渡邊 信 (筑波大) (2009) 微細藻類のオイル生産 日本植物学会第73回大会 山形 2009年9月17-20日
- ② ポスター発表 (国内会議6件、国際会議20件)
1. Hiroshi Matsuura (U. Tsukuba), Tomoharu Sano (NIES), Daisuke Honda (U. Konan), Makoto M. Watanabe (U. Tsukuba) and Kunimitsu Kaya (U. Tsukuba) (2010) Lipid analysis of thraustochytrid *Aurantiochytrium limnacinum* SR21 ISPL 2010, P-25, Cairns, Australia, 11-16 July 2010
 2. Nakazawa, A. (U. Tsukuba), Matsuura, H. (U. Tsukuba), Kose, R. (U. Tsukuba), Honda, D. (U. Konan), Kaya, K. (U. Tsukuba) and Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010). Optimization of culture conditions of thraustochytrid, *Aurantiochytrium* sp. Strain 18W-13a for squalene production. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
 3. Tanabe, Y., Kato, S. and Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Bacterial ectosymbiont of *Botryococcus* – a potential resource of growth promoting agent of oil-producing algae. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
 4. Nakajima, N. (NIES), Ioki, M. (NIES), Watanabe, M. M (U. Tsukuba) (2010) Isolation of herbicide-resistant mutants of *Botryococcus braunii* (Trebouxioophyceae, Chlorophyta), The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010

5. Ioki, M. (NIES), Baba, M. (U. Tsukuba), Nakajima, N. (NIES), Shiraiwa, Y. (U. Tsukuba), Watanabe, M. M. (U. Tsukuba) (2010) Mode of liquid hydrocarbon biosynthesis revealed by comparative gene expression analysis for Race A and Race B strains of *Botryococcus braunii*. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
6. I Ioki, M. (NIES), Baba, M. (U. Tsukuba), Nakajima, N. (NIES), Shiraiwa, Y. (U. Tsukuba), Watanabe, M. M. (U. Tsukuba) (2010) Novel EST dataset for a Race B strain of *Botryococcus braunii* generated by 5'-end sequencing of clones in a full-length-enriched cDNA library. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
7. Baba, M. (U. Tsukuba), Ioki, M. (NIES), Nakajima, N. (NIES), Shiraiwa, Y. (U. Tsukuba), Watanabe, M. M (U. Tsukuba) (2010) Novel EST dataset for a Race A strain of *Botryococcus braunii* generated by pyrosequencing. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
8. Baba, M., Kikuta, F., Suzuki, I., Watanabe M.M. and Shiraiwa, Y. (U. Tsukuba) (2010) Light specificity of an oil-producing green alga *Botryococcus braunii*. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
9. Tanoi, T. (NIES), Kawachi, M. (NIES), Watanabe, M.M (U. Tsukuba) (2010). Influence of iron on growth and colony formation of oil producing alga *Botryococcus braunii*. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, P3-7, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010.
10. Niitsu, R.(U. Ochanomizu), Kanazashii, M. (U. Ochanomizu), Matsuwaki, I. (U. Ochanomizu), Ikegami, Y. (U. Ochanomizu), Kato, T. (U. Ochanomizu), Tanoi, T. (NIES), Kawachi, M. (NIES), Kato, M. (U. Ochanomizu) (2010) Expression analysis of genes involved in botryococcene biosynthesis in *Botryococcus braunii* (Chlorophyceae). The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
11. Kokubun, Y., Taira, M., Nomizu, M., Nakayama, T., Ishida, K, Inouye, I., Kaya, K. and Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Effect of N- and Si-starvation on lipid production of oil-accumulating diatom, *Sellaphora seminulum*. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 201
12. Ishimatsu, A. (U. Tsukuba), Matsuura, H. (U. Tsukuba), Hirakawa, Y. (U. Tsukuba), Sano, T. (NIES), Kaya, K. (U. Tsukuba) and Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) On the methylation process of hydrocarbon in *Botryococcus braunii* B race. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 201
13. Kawachi, M.(NIES), Tanoi, T. (NIES), Demura, M. (NIES), Kaya, K (U. Tsukuba), Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010) Molecular phylogeny of *Botryococcus braunii* relationship with the hydrocarbon types. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010.
14. Demura, M. (NIES), Kawachi, M. (NIES), Mayuzumi, Y. (U. Tsukuba), Watanabe, M.M (U. Tsukuba) (2010). Genetic succession of *Botryococcus braunii* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) in two reservoirs. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010

15. Hiroshi Matsuura (U. Tsukuba), Daisuke Honda (U. Konan), Makoto M. Watanabe (U. Tsukuba) and Kunimitsu Kaya (U. Tsukuba) (2010). Accumulation of triglyceride consisted of all saturated fatty acids in high glucose-containing medium of thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. strain 18W-13a. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
16. Hiroshi Matsuura, Makoto M. Watanabe and Kunimitsu Kaya. (U. Tsukuba) (2010) A carotenoids and hydrocarbons accumulating strain of *Botryococcus braunii*. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
17. Nagano, S. (Toyota Centarl Inst.), Yamamoto, S. (Toyota Centarl Inst.), Nagakubo, M. (Denso), Atsumi, K. (Denso) and Watanabe, M.M. (U. Tsukuba) (2010). Automotive fuel and microalgae oil. The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
18. N.Yonezawa, H.Matsuura, M.Shiho, K.Kaya. and M.M.Watanabe (U. Tsukuba) (2010) Effect of the wastewater from a soy curd manufacturing factory on growth of *Botryococcus* strain Bot-22, The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
19. R.Shimamura, W.Watanabe, Y.Sakakura, M.Shiho, K.Kaya, and M.M.Watanabe (U. Tsukuba) (2010) Development of seed culture system of *Botryococcus* for futere mass culture, The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Tsukuba, Japan, 13-14 December 2010
20. Ioki M (NIES), Tanoi T (NIES), Kawachi M (NIES), Mayuzumi Y (U. Tsukuba), Tamaoki M (NIES), Watanabe M M (U. Tsukuba), Nakajima N (NIES) (2009) EST Analysis of Oil-producing Green Algae *Botryococcus braunii*. Plant Biology 2009; Joint Annual Meetings of the American Society of Plant Biologists and the Phycological Society of America, Hawaii, Honolulu, July 18-22.

(国内発表)

1. 五百城幹英(国立環境研)、馬場将人(筑波大)、白岩善博(筑波大)、渡邊信(筑波大)、中嶋信美(国立環境研) (2011) 網羅的遺伝子発現解析によるオイル産生緑藻ボトリオコッカスにおけるオイル生合成機構の解明 第52回日本植物生理学会年会 2011年 3月18日仙台
2. 渡邊 信(筑波大)(2010) オイル産生緑藻類 *Botryococcus*(ボトリオコッカス) 高アルカリ株の高度利用技術 「二酸化炭素排出抑制に資する革新的技術の創出」研究領域－第二回公開シンポジウム－ 2010年12月3日、東京
3. 五百城 幹英(国立環境研)、馬場 将人(筑波大・院)、田野井 孝子(国立環境研)、河地正伸(国立環境研)、黛 裕介(筑波大・院)、鈴木 石根(筑波大・院)、白岩 善博(筑波大・院)、彼谷 邦光(筑波大・院)、渡邊 信(筑波大・院)、中嶋 信美(国立環境研) (2010) 国内産オイル産生緑藻類 *Botryococcus braunii* の EST 解析. 第51回日本植物生理学会年会, 熊本, 2010年3月18日-21日
4. 黛 裕介(筑波大・院)、高橋 春瑠香(筑波大・院)、河地 正伸(国立環境研)、出村 幹英(国立環境研究所)、白岩 善博(筑波大・院)、井上 勲(筑波大・院)、田辺 雄彦(筑波大・院)、彼谷 邦光(筑波大・院)、渡邊 信(筑波大・院) (2010) 炭化水素産生緑藻ボトリオコッカスの自然界における季節消長. 第34回日本藻類学会, つくば, 2010年3月19日-22日

5. 渡邊 信・井上 勲(筑波大)(2009) 未来を拓く藻類エネルギー。新成長戦略発表展示会、総理官邸、東京、2009年12月30日
6. 中嶋信美(国立環境研)、五百城幹英(国立環境研)、河地正伸(国立環境研)、田野井孝子(国立環境研)、渡邊 信(筑波大・院)(2009) オイル生産藻類 *Botryococcus braunii* の EST 解析 第50回日本植物生理学会年会, 名古屋, 2009年3月21日-24日

(4)知財出願

①国内出願 (6件)

1. 永久保雅夫、久野齊、渡邊信、彼谷邦光 (2011) 保湿剤。特願2011-174242
2. 渡邊信、彼谷邦光、井上勲、中澤敦、志甫諒 (2010) 高いスクワレン産生能を有する新規微生物及びこれによるスクワレンの製造方法。出願2010-275109
3. 渡邊信、彼谷邦光、河地正伸、田野井孝子、志甫諒 (2010) ボトリオコッカス・ブラウニー (*Botryococcus braunii*) 属の新規株。出願2010-275105
4. 坂倉良男、志甫諒、彼谷邦光、渡邊信 (2010) 濃縮・分離槽。出願2010-155962
5. 渡邊信、河地正伸、田野井孝子、森下敏之 (2009) 新規なアステイカカウリス・エキセントリカス菌株、それを用いた微細藻類の培養法、及び炭化水素の製造法。出願2009-106934
6. 山下邦彦、油脂製造システムおよび油脂製造方法、出願2009-096201

②海外出願 (2件)

1. 渡邊信、彼谷邦光、井上勲、中澤敦、志甫諒 (2011) 高いスクワレン産生能を有する新規微生物及びこれによるスクワレンの製造方法。PCT/JP2011/78603 (注:JSTよりサポート)
2. 渡邊信、彼谷邦光、河地正伸、田野井孝子、志甫諒 (2010) ボトリオコッカス・ブラウニー (*Botryococcus braunii*) 属の新規株。PCT/JP2011/78606

(5)受賞・報道等

①受賞

渡邊 信 科学技術への顕著な貢献 2009(ナイスステップな研究者) (文部科学省科学技術政策研究所)

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 日経新聞 燃料用の藻、大量生産 DIC と筑波大、13年をめど実現 2011年8月16日
2. TBS 夢の扉+ 2011年5月29日
3. 毎日新聞 フロンティア 世界を変える研究者 藻類から「石油」実用へ 2011年3月8日
4. 朝日ニュースター 武田鉄也の週刊鉄学 「夢のプロジェクト」藻から石油ができる」 2011年2月27日

5. NHK 私も一言！ 夕方ニュース ここに注目 2011 年 1 月 28 日
6. 読売新聞 藻類の石油で自給率アップ 2010 年 11 月 11 日 夕刊
7. NHK 油生産効率 10 倍藻発見 2010 年 12 月 10 日 6 時台および 7 時台のニュース
8. 朝日新聞 石油を作る藻類、沖縄に有望株 2010 年 12 月 14 日 夕刊
9. 日経新聞 効率よく「石油作る藻」筑波大発見 2010 年 12 月 15 日朝刊
10. 日経産業新聞 油の生産効率 10 倍 藻類、筑波大が発見 2010 年 12 月 15 日朝刊
11. 琉球日報 バイオ燃料 筑波大研究者、藻類から油抽出 沖縄で採取 2010 年 12 月 16 日朝刊
12. 日経産業新聞 藻類を燃料に 2010 年 4 月 13 日 朝刊
13. NHK クローズアップ現代 夢の植物で新エネルギーを作れ～加速するバイオエネルギー燃料開発 2010 年 4 月 20 日放送
14. 日経エコロジー 2009 年 4 月 57～59 ページ 「藻類から作るバイオ燃料」
15. 朝日新聞 2009 年 7 月 7 日 「石油生む藻類 人類救うか」
16. NHK 2009 年 6 月 18 日に総合テレビの You-DOKI NETWORK において、筑波大学での藻類エネルギー技術開発の状況について放映
17. テレビ朝日 2009 年 8 月 28 日にお朝のニュースで筑波大学での取り組みと藻類のオイル生産のポテンシャルの高さについて放映
18. 日本テレビ 2009 年 9 月 5 日「世界一受けたい授業」で大学の藻類エネルギーの研究について紹介
19. NHK 2009 年 9 月 9 日朝のニュースで筑波大学の藻類エネルギー研究について紹介
20. NHK 2009 年 11 月 14 日 NHK 教育テレビのサイエンスゼロに出演し、藻類燃料について説明
21. 読売新聞 2008 年 11 月 20 日夕刊2面 明日へ～エネルギー創造1 「油 湖沼の藻から生産」
22. 毎日新聞 2009 年 2 月 2 日朝刊 21 頁 「環境破壊を教訓に バイオ燃料の新潮流」
23. 日経エコロジー 2009 年 4 月 57～59 ページ 「藻類から作るバイオ燃料」

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- ・ 2008 年8月に設立したベンチャー企業の新産業創造研究所がCRESTの成果をもとにして筑波大学発 73 番目のベンチャー企業として認定され、知財保護を中心に本研究グループと企業のインターフェイスの役割を実施。
- ・ 文部科学省特別経費において「次世代環境エネルギー技術開発国際研究拠点」が採択され、藻類バイオマス研究を国際的に展開するための拠点を形成することとなった。
- ・ 本研究で得られた野外培養技術について、スピルリナ生産で世界的な企業であるDIC-Earthrise 社と共同研究を実施することとなった。
- ・ NEDO の「バイオマスエネルギー技術研究開発／戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業(次世代技術開発)」において「共生を利用した微細藻類からのバイオ燃料製造プロセスの研究開発」で JFE との共同研究として採択された。
- ・ 藻類エネルギー技術開発が主要なプロジェクトの一つとなっている「つくば国際戦略特区」が採択され、CREST での研究を発展的に展開することとなった。

②社会還元的な展開活動

- ・ 藻類バイオマスに関する情報収集、実用化に向けた課題の抽出を行うことを目的として、本研究グループが中心となって藻類産業創成コンソーシアムを結成し、70 企業が参加。本年度藻類産業創成コンソーシアムとして、農水省の緑と水の環境技術革命プロジェクト事業(事業化可能性調査)において、「農山漁村における藻類バイオマスファームの事業化工程」の課題で採択され、藻類バイオマス利用技術開発ロードマップを今年度中に作成。
- ・ 震災にあった宮城県、仙台市、石巻市、文部科学省環境エネルギー課、自民党地球温暖化防止特別委員会、民主党川内ひろし科学技術イノベーション特別委員会委員長、国土交通省下水道局に、震災復興にむけて藻類バイオマスの利用を提言した。

§ 6 研究期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

| 年月日 | 名称 | 場所 | 参加人数 | 概要 |
|------------------------|---|---|--------|---|
| 2011 年 3 月 26 日 | 日本藻類学会第 35 回 大会 富山 2011 大会 藻類ワークショップ I 藻 類・藻類ウイルス・原生 動物等の分離・培養法 | 富山大学 | 約 50 名 | オイル産生藻類の分離培養 法について解説した。 |
| 2010 年 12 月 13,14 日 | The 1st Asia-Oceania Algae Innovation Summit | University Hall, University of Tsukuba | 255 人 | CREST 研究成果の発表と産 官学による藻類イノベーショ ンの国際連携のためのサミ ット会議。参加者:247 名でう ち外国人参加者 75 名。学術 分野のセッションでは 70 課 題が発表。 |
| 21 年 10 月 26 -27 日 | 日蘭セミナー 持続性としての藻類 Japan-Netherlands Seminar in Tokyo, Algae for Sus- tainability | 筑波大学東 京本部 | 200 | 志甫 諒、渡邊 信 、井上 勲他日本人講演者 9 名、オランダからの講演者 8 名 |
| 21 年 8 月 8 日 | International symposium on algal fuel researches | つくば国際 会議場 | 250 | 講演者:彼谷邦光他米国か ら 2 名、オランダから 1 名、オ ーストラリアから 1 名、韓国か ら 1 名 パネラー:渡邊信 |

§ 7 結び

本プロジェクトを進めて 3 年あまりで若手研究者が育ってきて、2011～2012 年にかけて数多くの成果を原著論文で国際誌に発表することができた。本プロジェクトで得られた成果および育ってきた若手研究者をもとに、「つくば国際戦略特区」等の大型プロジェクトで本プロジェクトを発展的に展開することとなった。これまで以上のご指導ご鞭撻をよろしくお願いいたします。