

田中 剛

東京農工大学大学院工学研究院  
准教授

海洋微細藻類の高層化培養によるバイオディーゼル生産

## § 1. 研究実施体制

### (1)「分子育種」グループ

①研究代表者:田中 剛(東京農工大学、准教授)

②研究項目

- ・ トリグリセリド合成の律速因子の特定
- ・ オイル高生産変異株の作出

### (2)「計算機解析」グループ

①主たる共同研究者:油谷 幸代(産業技術総合研究所生命情報工学研究センター、主任研究員)

②研究項目

- ・ 遺伝子ネットワーク解析
- ・ 代謝パスウェイ解析

### (3)「高層化培養」グループ

①主たる共同研究者:佐藤 朗(ヤマハ発動機株式会社、主査/グループリーダー)

②研究項目

- ・ 長期培養システムの実証

### (4)「LCA・プロセス」グループ

①主たる共同研究者:松本 光史(電源開発株式会社、主任研究員)

②研究項目

- ・ 大規模培養の検証、LCA 評価

(5)「エンジン実証」グループ

①研究代表者:吉田 幸司(日本大学、教授)

②研究項目

- ・ エンジン実証試験

## § 2. 研究実施の概要

海洋珪藻 *Fistulifera* 属によるトリグリセリドの生産性向上や高品質なバイオディーゼル燃料 (BDF) 生産に向けた基盤技術として、全ゲノム情報の解読、及び遺伝子組み換え系を確立し、海洋微細藻類の BDF 生産株として世界の標準株にすることを旨とする。さらに、当該株を用いたオイル生産技術の実用化に向けて、オイル生産性の理論限界値を導出するとともに、屋外培養における BDF 製造プロセスの最適化を目的とする。

「分子育種グループ」ではトリグリセリド合成関連遺伝子群の機能解析を実施し、BDF の生産性向上を目指した各種遺伝子組み換え体の作出を行った。本年度は特定のデサチュラーゼ遺伝子を RNAi によりノックダウンすることで、BDF を高品質化できることを示した。さらにマルチオミクス解析、及び計算機解析グループにより新たに特定されたトリグリセリド合成経路により、オイル高生産に資する変異株作出の対象となる候補遺伝子の絞り込みを行った。

「計算機解析グループ」では昨年度までに高精度に決定された *Fistulifera* 属全遺伝子のゲノム配列を元に RNA-seq データの再計算を行い、トリグリセリド蓄積過程における遺伝子発現変動の精密な情報を取得した。精密化された遺伝子発現情報に対して有意差解析を行い、トリグリセリド合成・蓄積時に発現変動している遺伝子群の同定を行った。同定した遺伝子群に対し、GSEA 解析およびグラフ理論を適用したパスウェイ解析を行うことで、トリグリセリド合成時に活性化しているグルコースからの最短代謝経路の同定を行った。

「高層化培養グループ」では、LED 照明を用いた藻体生産性およびエネルギー収支の向上期待値に関する実証を行った。まず、LED 照明の波長の検討を行い、*Fistulifera* 属 JPCC DA0580 株の生育に最適な搭載比率 (緑(525 nm):赤(660 nm):橙(590 nm):青(470 or 450 nm)=3:1:1:1) を決定した。さらに、人工光照明投入エネルギーを 1/3 に減らしても、従来と同等の藻体生産性が得られ、エネルギー収支の向上に極めて有望な手段であることを示した。

「LCA・プロセスグループ」では室内で試験されたライトパス幅 8 cm、内容積 100 L のパネル型培養装置を用いて、H25 年 4 月から 10 月末までの 7 か月間の屋外培養試験を実施した。その結果、これまで得られたレースウェイ型、カラム型の培養装置と同様に、本装置を用いても屋外培養が行えることを確認した。また、藻体生産性とエネルギー収支との両者を考慮したバイオ燃料生産においては、レースウェイ型による屋外培養が実用化に適していると判断された。

「エンジン実証グループ」では、海洋微細藻類から抽出されたトリグリセリドを原料としてメチルエステル交換して作成された BDF のディーゼルエンジン用燃料としての有用性及びバイオディーゼル燃料としての性能を明らかにするために、4 サイクル小型空冷単気筒直噴ディーゼルエンジンを用いたエンジン実証試験を行った。本藻体から得られた BDF が軽油と同等の性質を持ち、十分に自動車用ディーゼルエンジンへ適応できることを示した。藻体由来 BDF の正味熱効率、正味平均有効圧力、排気ガス中の一酸化炭素、二酸化炭素及び窒素酸化物濃度は軽油とほぼ同等であることが確認された。また本藻体から得られた BDF を日本工業規格 JIS K 2390 に規定される割合 (5wt%) で軽油に混合した場合においても、自動車用コモンレール燃料噴射装置が問題なく稼働することを確認出来た。以上の結果より、本藻体由来 BDF は十分に自動車用ディーゼルエンジンへ適応できることが示された。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国内)

なし

##### 論文詳細情報(国際)

- 1) Yue Liang, Yoshiaki Maeda, Yoshihiko Sunaga, Masaki Muto, Mitsufumi Matsumoto, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka, “Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in the oleaginous marine diatome *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580.”, *Marine Drugs*, vol.11, No.12, pp.5008-5023, 2013 (DOI: 10.3390/md11125008)
- 2) Yue Liang, Yoshiaki Maeda, Tomoko Yoshino, Mitsufumi Matsumoto & Tsuyoshi Tanaka, “Profiling of fatty acid methyl esters from the oleaginous diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580 under nutrition-sufficient and-deficient conditions.”, *Journal of Applied Phycology*, 2014 (DOI: 10.1007/s10811-014-0265-y)
- 3) Masaki Muto, Chihiro Kubota, Masayoshi Tanaka, Akira Satoh, Mitsufumi Matsumoto, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka, “Identification and functional analysis of delta-9 desaturase, a key enzyme in PUFA synthesis, isolated from the oleaginous diatom *Fistulifera*.”, *PLOS ONE*, vol.8, No.9, e73507, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0073507)
- 4) Daisuke Nojima, Tomoko Yoshino, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto & Tsuyoshi Tanaka, “Proteomics analysis of oil body-associated proteins in the oleaginous diatom.”, *Journal of Proteome Research*, vol.12, No.11, pp.5293-5301, 2013 (DOI: 10.1021/pr4004085)
- 5) Kyoko Osada, Masahito Hosokawa, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka, “Monitoring of cellular behaviors by microcavity array-based single-cell patterning.”, *Analyst*, vol.139, No.2, pp.425-430, 2014 (DOI: 10.1039/C3AN01698F)
- 6) Michiko Nemoto, Yoshiaki Maeda, Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Shigeki Mayama & Tsuyoshi Tanaka, “Identification of a frustule-associated protein of the marine pennate diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580.”, *Marine Genomics*, 2014 (DOI: 10.1016/j.margen.2014.01.006)
- 7) Sachiyo Aburatani & Hiroyuki Toh, “Structural Equation Modeling for systems

- biology.”, *Encyclopedia of IS&T.*, in press
- 8) Sachiyo Aburatani & Hiroyuki Toh, “Genetic Network Inference of AP pattern formation in *D. melanogaster* embryo by structural equation modeling.”, *Physics in Medicine and Biology*, in press
  - 9) Sachiyo Aburatani & Hiroyuki Toh, “Network Inference of AP pattern formation system in *D. melanogaster* by Structural Equation Modeling.”, *Journal of Physics: Conference Series*, 490, 012145, pp.1-4, 2014 (DOI:10.1088/1742-6596/490/1/012145)
  - 10) Reiko Sato, Yoshiaki Maeda, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka & Mitsufumi Matsumoto, “Seasonal variation of biomass and oil production of the oleaginous diatom *Fistulifera* sp. in outdoor vertical bubble column and raceway-type bioreactors.”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2013 (DOI: 10.1016/j.jbiosc.2013.11.017)

### (3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 0件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3件)