

戦略的創造研究推進事業 C R E S T
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「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」

研究終了報告書

研究期間 平成21年10月～平成27年3月

研究代表者：田中 剛
(東京農工大学 大学院工学研究院
生命機能科学部門、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

オイルを高度に生産する海洋珪藻 *Fistulifera solaris* (*F. solaris*) を用いたトリグリセリド (TAG) の生産性の向上や高品質なバイオディーゼル燃料 (BDF) 生産に向けたインフラとして、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した。さらに、当該株を用いた BDF 生産技術の実用化に向けて、BDF 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した。

「微細藻類分子育種」、及び「計算機解析」グループでは、次世代シーケンサによる全ゲノム解析、トランスクリプトーム解析を実施し、TAG の代謝マップの構築を行った。さらに TAG 合成に至る代謝経路を統合的に理解することで、TAG を蓄積するオイルボディーのサイズ制御に関わる生物学的因子を特定した。また、*F. solaris* への遺伝子ノックイン及びノックダウン技術を確立し、細胞質を始め、葉緑体、オイルボディー、小胞体、珪殻への選択的な外来タンパク質発現技術を確立した。以上の基盤技術の構築により、*F. solaris* をオイル生産藻類モデルとして発信することができた。さらに、遺伝子組み換え技術を活用し、オイル生産性やオイル蓄積速度が向上した変異体の作出に成功している。また、ゲノム解読を行う過程で、研究対象とする藻類が異質二倍体の特殊なゲノム構造を有することが明らかとなり、新たな生物学的な挙動を理解する手がかりになることが期待される。

「高層化培養」グループでは、屋内閉鎖型のフラットパネル型リアクタを用いた *F. solaris* の高密度培養技術を開発し、50 倍以上のオイル生産性が達成され、対象株の BDF 生産性の理論限界値 (年間 34 t/ha) が示された。また、「エンジン実証」グループとともに、藻体由来 BDF の品質評価を行った。その結果、藻体由来 BDF は日本工業規格に規定される BDF 要求品質を十分に満足し、自動車用軽油に混合するための脂肪酸メチルエステルとして実用的に使用できるものと考えられた。また、機械式燃料噴射装置定常運転試験では、どのような藻体由来 BDF 質量混合割合においても、軽油とほぼ同等の圧縮着火燃焼特性と機関性能が示され、また安定した機関運転が可能であることを実験的に確認することができた。さらに、藻体由来 BDF は日本工業規格 JIS K 2390 に規定される 5wt% を軽油と混合し、自動車用ディーゼルエンジンへ適応できることが分かった。

「LCA・プロセス」グループの屋外培養においては、最終的な BDF 生産性が 12.5 t/ha/year と算出され、現状のパーム油を用いた BDF 生産性 (6 t/ha) の約 2 倍に達することが明らかとなった。さらに、「微細藻類分子育種」グループで作出した変異株を利用することで、20 t/ha/year を超える生産性を実現できるものと期待される。また、同条件でのエネルギー収支比 (EPR) を算出した結果、1 を上回ることが明らかとなり、2030 年実用化を目指して必要となる基盤技術を確立できた。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. Tsuyoshi Tanaka, Yoshiaki Maeda, Alaguraj Veluchamy, Michihiro Tanaka, Heni Abida, Eric Maréchal, Chris Bowler, Masaki Muto, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Takeaki Taniguchi, Yorikane Fukuda, Michiko Nemoto, Mitsufumi Matsumoto, Pui Shan Wong, Sachiyo Aburatani, Wataru Fujibuchi “Oil accumulation by the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* revealed by the genome and transcriptome” *The Plant Cell*, vol. 27, Number 1, pp. 162-176 (2015)

概要：

世界に先駆けてオイル蓄積珪藻 *F. solaris* の全ゲノム解読を完了した。その結果、微細藻類として初めてとなる異質倍数体ゲノム構造の発見、燃料特性に大きく影響する不飽和脂肪酸の合成経路の詳細な解明 (Mar Drugs 2013)、脂質合成の場である葉緑体の膜脂質とトリグリセリドとのターンオーバー機構の理解 (Mar Drugs 2014)、および燃料生産性向上のため遺伝子組み換え方法の確立 (Mar Biotechnol 2011) といった、バイオ燃料生産の分子育種に必要な基盤技術を確立した。

2. 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)

概要：

プロテオーム解析の結果、珪藻で初めて、脂質蓄積細胞小器官であるオイルボディーに局在するタンパク質の同定に成功した。見出されたタンパク質は、植物や緑藻において既知のオイルボディー局在タンパク質とは配列相同性を示さなかった。既知のオイルボディータンパク質にはオイルボディーのサイズを小さく制御する機能を示すが、珪藻においてこれらが見出されなかったことが、肥大したオイルボディーを形成できることの要因の一つではないかと考察された。

3. 知的財産権 発明者名：松永是・田中剛・吉野知子・田中祐圭・武藤正記・松本光史、権利者名：国立大学法人東京農工大学・電源開発株式会社「形質転換微細藻類及びその培養方法特願」、特願 2013-4703

概要：

バイオディーゼル燃料の生産工程において、副産物であるグリセロールが大量に廃棄されている。この未利用資源を培養のための炭素源として再利用し、持続性の高い燃料生産プロセスを構築することができるように、遺伝子組み換えにより代謝改変を施した *F. solaris* 変異体を作成した。グリセロールを資化する際に重要な役割を担うグリセロールキナーゼ遺伝子を過剰発現させたところ、バイオマス生産量を約 1.6 倍に増加させることに成功した。これは、遺伝子組み換えを利用して燃料生産工程の副産物の資化能を向上させ、微細藻類の生産性を増加させた初めての例となる。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 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*, vol.117, pp.720-724 (2014)

Akira Satoh, Kyonosuke Ichii, Mitsufumi Matsumoto, Chihiro Kubota, Michiko Nemoto, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga & Tsuyoshi Tanaka; “A process design and productivity evaluation for oil production by indoor mass cultivation of a marine diatom, *Fistulifera* sp. JPCC DA0580” *Bioresource Technology*, vol. 137, pp.132-138 (2013)

概要：

微細藻類の大量培養、オイルの大量生産を目的とした屋内閉鎖型リアクタと屋外開放型リアクタを設置し、長期培養実験、半回分培養実験、および同一株、同型培養リアクタを用いた培養システムの比較試験を行った。これらのデータを統合的に検証し、屋内で得られるバイオディーゼル燃料生産の理論限界値を指標することで、屋外培養でのオイル生産の律速因子を特定することに成功した。

2. 知的財産権 発明者名：田中 剛・吉野知子・前田義昌・立石卓馬・松本光史、権利者名：国立大学法人東京農工大学・電源開発株式会社、「新規珪藻タンパク質及びその利用」、特願 2014-158749

概要：

バイオ燃料生産実用化のボトルネックとされる藻体回収工程の省エネルギー化を実現しうる新たな回収方法の開発に成功した。遺伝子組み換えにより *F. solaris* の細胞表層に凝集性因子をディスプレイする技術を開発し、培養液中の藻体を凝集させる方法を確立した。これにより、エネルギー消費の大きい従来の遠心分離法を用いずに、容易に回収することができると考えられる。

3. Masahito Hosokawa, Masahiro Ando, Shoichiro Mukai, Kyoko Osada, Tomoko Yoshino, Hiro-o Hamaguchi & Tsuyoshi Tanaka "In vivo live cell imaging for the quantitative monitoring of lipids by using Raman microspectroscopy" *Analytical Chemistry*, vol. 86, No.16, pp.8224-8230 (2014)

概要：

ラマンイメージング解析による *F. solaris* 生細胞のオイルボディー中の脂肪酸組成の分析技術を確立した。これにより生細胞中の脂肪酸組成を定量的に測定することが可能となった。従来までは、細胞から脂質を抽出し、メチルエステル化したものをガスクロマトグラフィーにより分析する必要があったが、同手法により非侵襲かつ簡易にオイル組成の定量が可能となり、様々な生体内での脂肪酸分析技術への応用が期待される。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「分子育種」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
田中 剛	東京農工大学・大学院工学研究院	教授	H21.10～ H27.3
松永 是	東京農工大学・大学院工学研究院	教授	H21.10～ H23.3
吉野 知子	東京農工大学・大学院工学研究院	准教授	H21.10～ H23.3
佐藤 礼子	東京農工大学・大学院工学研究院	技官	H21.10～ H27.3
前田 義昌	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	D3	H21.10～ H22.3
武藤 正記	東京農工大学・大学院工学研究院	ポスドク	H21.10～ H27.3
杉山 寛	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	M2	H21.10～ H22.3
岩間 大輔	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	M2	H22.4～ H23.3
野島 大佑	東京農工大学・生物システム応用科学府・共同先進健康科学専攻	D3	H22.9～ H26.3
須永 吉彦	東京農工大学・生物システム応用科学府・共同先進健康科学専攻	D3	H22.11～ H25.3
梁 越	東京農工大学・生物システム応用科学府・共同先進健康科学専攻	ポスドク	H24.4～ H27.3
久保田 千尋	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	M2	H24.4～ H25.3
田中 祐圭	東京農工大学・大学院工学研究院	助教	H25.4～ H26.3
本多 亨	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	D3	H25.4～ H27.3
長田 響子	東京農工大学・生物システム応用科学府・共同先進健康科学専攻	D2	H26.4～ H27.3
高橋 知里	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	M2	H26.4～ H27.3
立石 卓馬	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	M1	H26.4～ H27.3
籾内 貴史	東京農工大学・工学府・生命工学専攻	M1	H26.4～ H27.3

研究項目

- ・ *Fistulifera* 属の全ゲノム解析
- ・ 遺伝子組み換え系の確立・最適化
- ・ Chemical mutant の取得
- ・ トリグリセリド合成経路の解析

- ・ 他属種とのオイル生産性比較
- ・ メタボローム解析によるトリグリセリド合成律速因子の特定
- ・ LCA の評価

② 「高層化培養」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
佐藤 朗	ヤマハ発動機株式会社・技術本部・研究開発統括部・BT 推進グループ	主査	H21.10～ H26.3
石倉 正治	ヤマハ発動機株式会社・技術本部・技術企画部・事業開発グループ (兼) 技術本部・研究開発統括部・BT 推進グループ	主査	H21.10～ H23.9
富田 祥之	ヤマハ発動機株式会社・技術本部・研究開発統括部・BT 推進グループ	担当	H21.10～ H23.3
一井 京之助	ヤマハ発動機株式会社・技術本部・研究開発統括部・BT 推進グループ	主事	H21.10～ H26.3
飯田 実	ヤマハ発動機株式会社・技術本部・研究開発統括部・パワートレイン研究部パワースソースグループ	主査	H23.12～ H26.3

研究項目

- ・ 中規模リアクタでの培養条件の最適化
- ・ ディーゼルエンジンを用いた実証試験
- ・ 長期培養システムの実証

③ 「LCA」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
松本 光史	電源開発株式会社・若松研究所	主任研究員	H21.10～ H26.3
西村 恭彦	電源開発株式会社・若松研究所	研究員	H21.10～ H26.3

研究項目

- ・ 屋外開放型リアクタの設計
- ・ 新規微細藻類の探索
- ・ オイル抽出プロセスの検討
- ・ 大規模培養の検証・LCA 評価

④ 「エンジン実証」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
吉田 幸司	日本大学 理工学部	教授	H24.11～ H26.3

阿部 裕也	日本大学大学院理工学研究科	M2	H24.11～ H25.3
芦田 光	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.11～ H25.3
小出 哲史	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.11～ H25.3
小林 陽介	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.11～ H25.3
信田 高大	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.11～ H25.3
鈴木 浩平	日本大学大学院理工学研究科	M1	H24.11～ H26.3
山澤 昌之	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.11～ H26.3
李 欣潼	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.11～ H26.3
李 騰	日本大学理工学部機械工学科	4年	H22.11～ H26.3
劉 凡剛	日本大学理工学部機械工学科	4年	H24.4～ H26.3

研究項目

- ・ 珪藻由来 BDF のエンジン実証試験

⑤ 「計算機解析」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
藤渕 航	生命情報工学研究センター	招聘研究員	H23.4～ H26.3
油谷 幸代	生命情報工学研究センター・細胞システム解析チーム	主任研究員	H23.4～ H27.3
田中 道廣	生命情報工学研究センター・細胞機能設計チーム	産総研特別研究員	H23.4～ H24.3
Pui Shan Wong	生命情報工学研究センター・細胞システム解析チーム	テクニカルスタッフ	H24.4～ H27.3

研究項目

- ・ 遺伝子ネットワーク解析
- ・ 代謝パスウェイ解析

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

- ・ 珪藻のマルチオミックス解析を進めるにあたり、フランス国立科学研究センター (Centre national de la recherche scientifique: CNRS) の Chris Bowler 博士と共同研究を行っている。また、別の珪藻において異質倍数体のゲノム構造を見出した University of East Anglia (英国) の Thomas Mock 博士と共同研究を実施し、藻類における異質倍数体ゲノム構造の生物学的意義について解析を進めている。欧州では大規模な藻類研究コンソーシアムが構築されており、研究代表者は、上記共同研究者らを通じて当該コンソーシアムのメン

バーと積極的な交流を図っている。また、国内外通じて、珪藻の分子生物学研究が立ち遅れている中、研究代表者が発起人の一人となり平成 25 年度に分子珪藻研究会を立ち上げ、平成 26 年 12 月に第一回分子珪藻学会が開催される運びとなった。

- 産業界との連携については、民間企業との共同研究、自治体のご協力を得て、生活排水に含まれる窒素源、リン源の有効利用を通じた藻類燃料生産について研究を進めている。

§ 3 研究実施内容及び成果

4. 1 微細藻類のゲノム解析及び変異体作出 (東京農工大学 微細藻類分子育種グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

オイルを高度に生産(60% w/w)する海洋珪藻 *Fistulifera* 属 JPCC DA0580 株 (図1) の全ゲノム情報を明らかにし、マルチオミックス解析によるトリグリセリド (Triacylglycerol: TAG) 合成経路とその共役経路の統合的な理解を第一の目的とした。また、目的遺伝子の導入・発現(ノックイン)技術、遺伝子発現抑制(ノックダウン)技術を確立すること、それによりバイオディーゼル燃料(Biodiesel fuel: BDF)生産性の向上に資する各種変異体を作成することをそれぞれ第二、第三の目的とした。各研究課題を以下の3つの研究項目に集約する。

4. 1. 1 マルチオミックス解析 (計算機解析グループと共同)

研究課題： *Fistulifera* 属の全ゲノム解析／トリグリセリド合成経路の解析／メタボローム解析によるトリグリセリド合成律速因子の特定

4. 1. 2 遺伝子組換え技術の確立

研究課題： 遺伝子組み換え系の確立・最適化

4. 1. 3 BDF 生産性の向上に向けた各種変異体の作出 (LCA・プロセスグループと共同)

研究課題： トリグリセリド合成経路の解析／メタボローム解析によるトリグリセリド合成律速因子の特定／Chemical mutant の取得

また、本研究で対象とするオイル生産珪藻 JPCC DA0580 株は *Fistulifera* 属の新種であることが明らかとなり、*Fistulifera solaris* と命名した。以下、その略称である *F. solaris* と記載する。

4. 1. 1 マルチオミックス解析

【ゲノミクス】 次世代シーケンサ Genome Sequencer FLX System により *F. solaris* の全ゲノム配列を決定した。また、決定した全ゲノム配列のアセンブリに成功し、ゲノム構造を決定した。これまでゲノム構造が決定された藻類は本株を含めて 12 株であり、オイル生産藻類では初めてである。結果として、*F. solaris* は、藻類では初めての報告となる、2種類のゲノム (異質倍数体ゲノム) を有することが明らかとなった (ゲノム構造の決定方法は4. 2. 1に記載)。また、遺伝子予測プログラムにより遺伝子推定を行い、遺伝子数などの基本情報を決定した (表1)。これらをもとに、“相同性遺伝子の抽出”、“ゲノムマップの閲覧”などを実行できる珪藻ゲノム情報データベースを構築した。全ゲノムデータは、公共のゲノムデータリポジトリを通じて一般公開する。

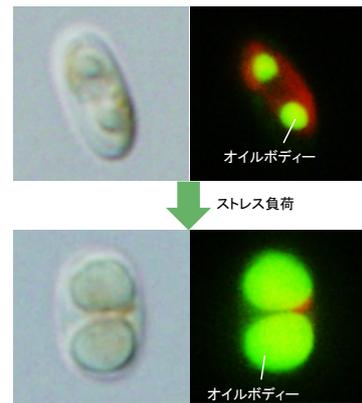


図1 海洋珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 の蛍光顕微鏡写真。オイルボディーをBodipy505/515により緑色に染色。

表1 *Fistulifera*属とモデル珪藻とのゲノム構造比較

	<i>Fistulifera solaris</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	<i>Thalassiosira pseudonana</i>
核ゲノム			
ゲノムサイズ(Mbp)	24.9	27.4	32.4
染色体数	42	33	24
予測遺伝子数	11,448	10,402	11,776
GC含量 (%)	46	49	47
葉緑体ゲノム			
ゲノムサイズ (kbp)	135	117	129
予測遺伝子数	132	130	127
GC含量 (%)	32	33	31
ミトコンドリアゲノム			
ゲノムサイズ(kbp)	>38.6	77.4	43.8
予測遺伝子数	31	32	35
GC含量 (%)	28	35	30

すでに全ゲノム配列が報告されているオイル生産株ではない珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* 及び *Thalassiosira pseudonana* とオイル生産珪藻 *F. solaris* の比較ゲノム解析を行い (表 1)、オイル蓄積に関与する遺伝子のスクリーニングを行った。その結果、オイル生産珪藻である *F. solaris* ゲノムに特徴的な 354 の遺伝子ファミリーを同定した。その中で、オイル生産藻類に共通する遺伝子ファミリーは 48 であった。その中で、脂質合成に関与すると考えられる遺伝子ファミリーが抽出された。

【トランスクリプトミクス】 *F. solaris* は、他の微細藻類と異なり、特定の培養条件においては、増殖をしながらオイル蓄積できることを見出している (図 2)。この細胞増殖とオイル蓄積が同時進行するメカニズムが解明できれば、微細藻類で必要とされる栄養枯渇によるオイル蓄積誘導プロセスを省略した、効率的なオイル生産プロセスの実現につながると思われる。そこで、同培養条件のトランスクリプトーム解析を実施し、細胞増殖とオイル蓄積の同時進行するメカニズムの解明に着手した。オイルが蓄積していく過程の細胞から RNA を抽出し、次世代シーケンサを用いた遺伝子発現解析を行った。

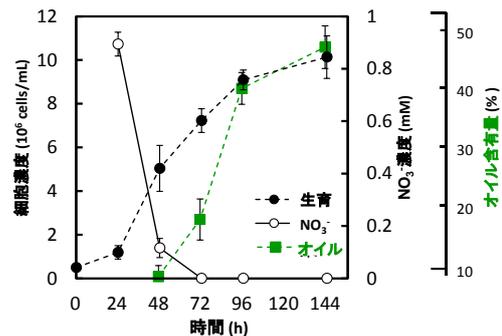


図2 *F. solaris*の細胞濃度、オイル含量及び培地中硝酸濃度の経時変化。増殖とともにオイル含量の増加が観察される。

その結果、オイル蓄積時には、脂肪酸や TAG の合成に関連する遺伝子の発現量が顕著に増加した。さらに、オイル蓄積時であるにも関わらず、ミトコンドリア内で脂肪酸の分解経路が高度に活性化していることが明らかとなった。オイル蓄積時に脂肪酸分解経路が活性化することは、他の微細藻類では確認されておらず、*F. solaris* 特異的な挙動である。以上の結果から、*F. solaris* では「脂肪酸・TAG の合成」と「脂肪酸分解によるエネルギー (ATP) 生産」が同時に活性化することで、細胞増殖とオイル蓄積の同時進行を実現しているものと考えられた。

【プロテオミクス】 代謝フラックスに依存しないオイル蓄積機構 (オイル蓄積の動態解析) を解析することを目指し、プロテオミクスによるオイル蓄積の制御タンパク質の特定を行った。*F. solaris* から TAG を蓄積する細胞内小器官であるオイルボディーを分画し、ショットガンプロテオーム解析に基づくオイルボディー局在タンパク質の同定を行った。その結果、高等植物から微細藻類まで広く存在するオイルボディー特異的な共通タンパク質が、*F. solaris* には見出されないことが分かった。一般に、オイルボディーに局在する共通タンパク質はオイルボディーのサイズを小さく保つ機能を有する。*F. solaris* では、このようなオイルボディーのサイズを制御するタンパク質を欠如しているため、細胞内に比較的大きなオイルボディーを形成するのではないかと考えられた (図 3)。一方で、高等植物のオイル蓄積過程では、オイルボディー形成や輸送に関与するタンパク質の存在も報告されている。そこでオイルボディー画分を高度に精製し、オイル

ポディー上の微量タンパク質の同定を行った。その結果、これまで見いだされなかった多数のオイルポディー局在タンパク質が同定された。

【メタボロミクス】 オイル蓄積時における代謝産物を網羅的に解析するメタボローム解析を行い、詳細なトリグリセリド合成経路の特定を試みた。まず、BDFの品質に直接影響を及ぼす高度不飽和脂肪酸、特にエイコサペンタエン酸(EPA)の生合成経路の特定に着手した。他の珪藻では $\omega 6$ 経路、 $\omega 3$ 経路など複数の合成経路を経てEPAが合成されていることが知られている。

一方、*F. solaris*のEPA前駆体脂肪酸の組成を解析した結果、 $\omega 3$ 経路が存在せず、 **$\omega 6$ 経路のみを経由してEPAが合成されている**ことが示された(図4)。これは $\omega 3$ 経路に必要な $\omega 3$ デサチュラーゼが、EPA合成の場である小胞体に存在しないという、*F. solaris*のゲノミクス研究で得られた結果と一致する。EPAは酸化しやすいため、BDFの品質向上に向けては、EPA含有量の低減が求められる。*F. solaris*においては $\omega 6$ 経路という単一の経路のみを阻害すればEPA合成を抑制できると考えられるため、他の珪藻と比較して、代謝改変による高品質なBDF生産をよりシンプルな方法で実現できると考えられる。また、ESI-Q-TOF-MS&MS/MS解析による脂質の構造解析から、当該株の中性脂質の基本骨格(ジグリセリド)は、ほとんど葉緑体で合成されていることが示唆された。これは、小胞体と葉緑体の両方で中性脂質の基本骨格を合成する高等植物や緑藻とは大きく異なる。一方、ゲノム解析から、ジグリセリドからトリグリセリドを合成する最終段階の反応を触媒する酵素が葉緑体に存在しないことが示唆されている。以上の結果から、当該株のTAG合成経路では、基本骨格となるジグリセリドまでを葉緑体で合成し、それを小胞体へ輸送してトリグリセリドに変換し、最終的にオイルポディーに輸送されることが考えられた。以上のように、TAGの主要な合成経路を推定することが可能となり、将来の代謝改変に寄与する洞察を多く得ることができた。

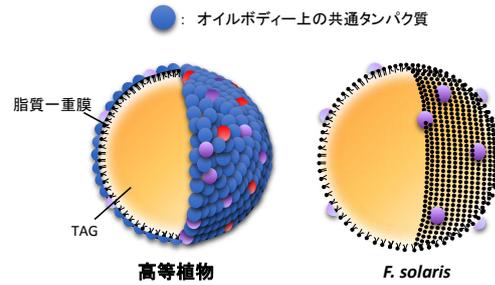


図3 高等植物及び*F. solaris*のオイルポディーのモデル図。高等植物のオイルポディーは、共通タンパク質に被覆されることでサイズが制御されている。*F. solaris*では、共通タンパク質の局在が見られない。

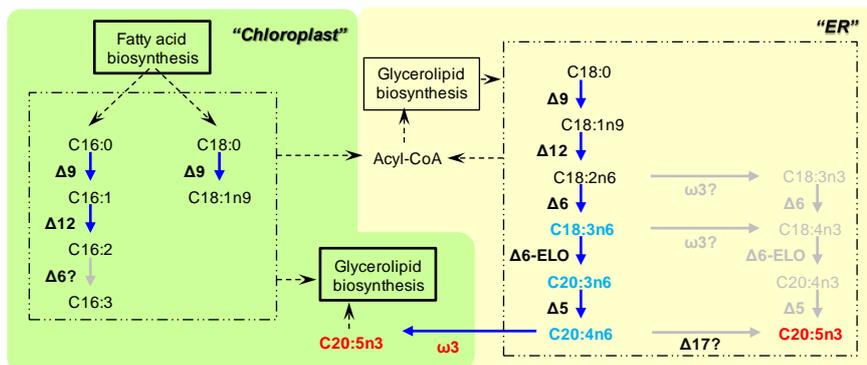


図4 *F. solaris*の高度不飽和脂肪酸(EPA)合成経路

4. 1. 2 遺伝子組換え技術の確立

珪藻の遺伝子組み換え手法として用いられるパーティクルガン法を採用し、*F. solaris* への遺伝子導入条件の検討を行った。パーティクルガンに用いる遺伝子導入条件(微粒子の種類・サイズ、圧力、塩濃度)の最適化を図り、500 µg/ml 抗生物質(G418)、3.7% NaClを含む培地を用い、DNA キャリアとして 0.6 µm タングステン粒子を使用した際に最も高い形質転換効率が得られた。また、*F. solaris* 由来のプロモーターを用いた場合に最も高い形質転換効率が得られることが分かった。遺伝子組み換え体は 1 年間以上導入遺伝子を保持できることを確認している。

さらに、内在遺伝子の機能解析や代謝経路の改変を目指し、*F. solaris* における遺伝子ノックダウン技術の確立を行った。当該株のゲノム情報から RISC 及び Dicer 遺伝子を有することが示されており、RNAi の作用機序に必須な遺伝子が保存されることが分かっている。遺伝子ノックダウンのモデルとして、GFP を安定的に発現している形質転換体 GFP_1 株に対して、*gfp* 遺伝子のアンチセンス鎖 (250 bp) の導入を行ったところ、約 90% の発現抑制が可能であることが分かった。微細藻類においてノックイン、ノックダウン(もしくはノックアウト)が可能なのは、*F. solaris* を含めて 5 株であり(表 2)、オイル生産藻類での遺伝子組み換えの成功例は、*Nannochloropsis* 属と同株のみである。

さらに、マルチオミックス解析のタンパク質局在予測を基に、細胞質、葉緑体、オイルボディー、小胞体、珪殻(細胞表層)に外来タンパク質を発現することに成功した(図 5)。ゲノム情報に基づく各代謝経路の局在予測が明らかとなっていることから、目的の細胞内小器官を標的とした効率的な代謝改変や新規プロセス創成への応用が可能になると期待される。

表2 遺伝子組換え技術が確立されている微細藻類

微細藻類	遺伝子 Knock-in	遺伝子 Knock-down
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	1989	2009
<i>Chlorella</i> spp.	1994	
<i>Volvox carteri</i>	1994	
<i>Cyclotella cryptica</i>	1995	
<i>Navicula saprophila</i>	1995	
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	1996	2009
<i>Amphidinium</i> sp.	1998	
<i>Symbiodinium microadriaticum</i>	1998	
<i>Cylindrotheca fusiformis</i>	1999	
<i>Euglena gracilis</i>	2001	
<i>Porphyridium</i> sp.	2002	
<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	2004	2009
<i>Dunaliella</i> spp.	2005	2008
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	2006	2013
<i>Haematococcus pluvialis</i>	2006	
<i>Chaetoceros</i> sp.	2011	
<i>Nannochloropsis</i> spp.	2011	
<i>Fistulifera solaris</i>	2012	2012
<i>Schizochytrium</i> sp.	2012	
<i>Scenedesmus</i> spp.	2013	
<i>Parachlorella kessleri</i>	2013	
<i>Isochrysis species</i>	2014	
<i>Tetraselmis chuii</i>	2014	
<i>Lobosphaera incisa</i>	2014	

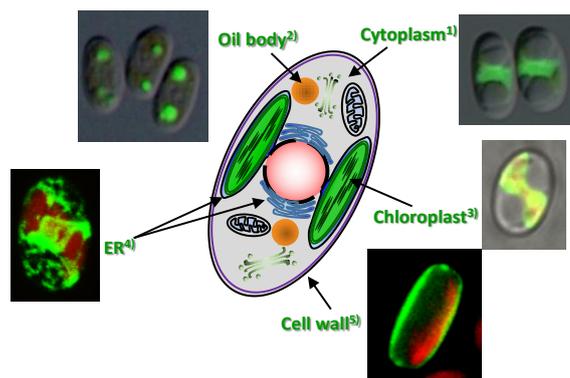


図5 *F. solaris*の細胞小器官に選択的な外来タンパク発現。モデルタンパク質としてGFPタンパク質を発現。
 1) Muto et al., *Mar. Biotechnol.* (2012), 2) Nojima et al., *J. Proteome Res.* (2013), 3) Sunaga et al., *JBB* (2014), 4) Maeda et al., *Mar. Drugs* (2014), 5) Nemoto et al., *Mar. Genomics* (2014).

4. 1. 3 BDF 生産性の向上に向けた各種変異体の作出

【グリセロールキナーゼ遺伝子のノックイン変異株】 BDF 精製時に副産物として生成するグリセロールを BDF 生産へ再利用するリサイクルプロセスの構築を目指し、グリセロール資化活性を向上させた *F. solaris* 変異体の作出を行った。*F. solaris* が保持するグリセロールキナーゼ遺伝子を発現した 90 クローン の形質転換体を取得した。その中から、グリセロールキナーゼ遺伝子が強発現している株を選抜した。選抜した株を光照射、グリセロール添加での混合培養条件で培養した結果、野生株と比較してバイオマス量(最終藻体到達濃度)と細胞あたりのオイル含量が向上していることが明らかとなった。回分培養あたりのオイル生産性としては、**野生株に比べ最大で 1.6 倍まで向上できる**ことが分かった(表 3)。このことから、同変異体を利用することで、オイル生産性の向上に寄与できるものと考えられた。

表3 グリセロール添加培地中におけるグリセロールキナーゼ遺伝子ノックイン株 (GK2_16)と野生株のオイル生産性比較

Strain	細胞濃度 (cells/mL)	オイル含量 (%)	オイル生産性 (mg/L)
野生株	1.34 x 10 ⁷	38.5	118.0
変異体(GK2_16)	1.60 x 10 ⁷	43.7	186.3

【デサチュラーゼ遺伝子のノックダウン変異株】 BDF に適した脂肪酸組成をもつトリグリセリド生産株の創製を目指し、デサチュラーゼ遺伝子の発現抑制を試みた。標的遺伝子のアンチセンス鎖を発現するベクターを設計し、当該株の形質転換を行った。その結果、 $\Delta 9$ デサチュラーゼ遺伝子をノックダウンした形質転換体において、脂肪酸の組成変化が可能であることを確認した。ノックダウン株と野生株と比較した結果、パルミトレイン酸 (16:1) と BDF の品質向上に必要なリノレン酸 (18:3) が有意に減少していることが確認できた。これにより**脂肪酸不飽和酵素遺伝子の発現抑制により脂肪酸組成を改変し、BDF 品質の向上へ応用可能である**ことが示された。

【化学変異株】 変異株の取得条件を確立し、同条件で約 4000 株の藻体クローンを取得した。この中から表現型の異なるクローンの解析を行った結果、凝集性を示すクローン 3 株、細胞サイズが小さいクローン 1 株、色素含量が減少したクローン 1 株が得られた。

4. 2 珪藻ゲノムのインフォマティクス解析

(独立行政法人産業技術総合研究所 計算機解析グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

「微細藻類分子育種」グループでの全ゲノム解析で示唆された *F. solaris* の特徴的なゲノム (異質倍数体ゲノム) 構造を裏付けることを目指し、遺伝子構造解析を行った。また、全ゲノム解析、及び遺伝子発現解析の結果を用いて、インフォマティクスによる高精度な遺伝子ネットワーク解析と代謝パスウェイ解析を行った。これにより、トリグリセリド生産関連酵素、転写基本因子、転写調節因子を同定し、共役経路を統合的に理解することを目的とした。

研究項目 4. 2. 1 遺伝子構造の解析 (微細藻類分子育種グループと共同)

4. 2. 2 遺伝子ネットワーク解析 (微細藻類分子育種グループと共同)

4. 2. 3 代謝パスウェイ解析 (微細藻類分子育種グループと共同)

4. 2. 1 遺伝子構造の解析

F. solaris は、すでにゲノム解読されている珪藻 2 種と系統的に独立していることが明らかであり、既報の珪藻種の遺伝子情報に基づく相同性検索から *F. solaris* 特有の遺伝子を予測することは困難であった。そこで、*F. solaris* に由来する 99 個の完全長 cDNA を遺伝子モデルとし、遺伝子予測プログラム AUGUSTUS を最適化した。この最適化プログラムを用いることで *F. solaris* から得られた塩基配列情報から高精度な遺伝子予測を行い、新たな遺伝子の発見やエキソン領域予測の高精度化を達成した。その結果、*F. solaris* の遺伝子数は 19,859 個と推定された。この数は、既知の藻類である *P. tricornutum* (10,402 遺伝子) と *T. pseudonana* (11,776 遺伝子) の約 2 倍であり、*F. solaris* が二倍体であることが改めて示唆された。次に、比較ゲノム用の配列アライメントプログラムである LASTZ を解析パイプラインに組み込み、全ゲノムの再解析を行った。その結果、*F. solaris* の決定配列がすべて 42 染色体にアセンブリングできることが明らかとなり、*F. solaris* が異質二倍体ゲノムを有することが示された (図 6)。

さらに、RNA-seq の結果を取り入れた AUGUSTUS による予測機能の他、リードをゲノム配列にマッピングした結果から遺伝子構造を予測した。これらの情報から、高精度な物理マップの可視化を達成した (図 7)。以上のような全ゲノム情報の詳細は公共リポジトリを通じて公開予定である。

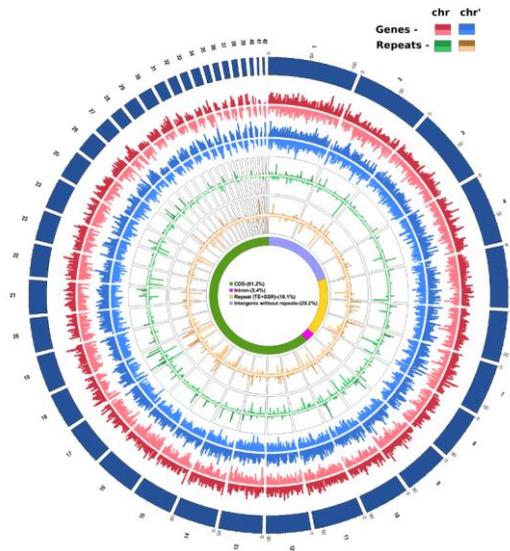


図6 *F. solaris*の全ゲノム情報からアセンブルされた染色体物理マップ。外周の青色ブロックは予測された染色体構造を示す。



図7 *F. solaris*のゲノムアノテーションクラウドシステム

4. 2. 2 遺伝子ネットワーク解析

4. 2. 1 で高精度化された遺伝子情報を元に、*F. solaris* の RNA-seq データの精密化を行い、トリグリセリド (TAG) 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 RNA-seq データにおいて、各遺伝子の発現変動を示す指標を探索するため、下記 4 種類の指標を試行した。

- 1) 閾値を用いたデータのバイナリ化、およびバイナリデータのパターン化
- 2) サンプル内での RNA-seq データの標準化
- 3) 同時におけるコントロール、窒素源欠乏で測定されたデータの比率
- 4) コントロール、窒素源欠乏それぞれにおいて、各時系列データと時間 $t=0$ との比率

上記の指標から TAG 生合成と関連のある遺伝子群を抽出するため、1) に対してはパターン解析を適用し、TAG 蓄積量と関連のある発現変動パターンを有する遺伝子抽出を行った。2), 3), 4) については有意差解析を実施することで、TAG 蓄積と関連する遺伝子群の推定を行った。その結果、3) のコントロール、窒素源欠乏の比率を用いることが最適であると考えられた。

次に、遺伝子間のネットワークを推定する手法の開発を行った。*F. solaris* における低窒素応答機構には、転写因子をはじめとする遺伝子以外の細胞内因子も考慮する必要があるため、因子分析と構造方程式モデリング (SEM) を組み合わせたネットワークモデリング手法を開発した。この手法により遺伝子情報のみを含んだ遺伝子発現データから、タンパク質など遺伝子以外の細胞内因子の影響を考慮した遺伝子発現ネットワークの概要を推定することが可能になった。開発した手法をモデル生物データに適用し、その有用性を確認した。開発した手法を *F. solaris* の発現データに適用するためには、①転写因子選択、②SEM を実行する前の初期モデルの構築、の 2 点が必要である。そこで、本グループがこれまでに行った高精度のゲノムシーケンスデータから、転写因子ドメインを持つと思われる遺伝子の推定を行った。この結果、約 20,000 の遺伝子のうち 7000 強の転写因子ドメインを持つ遺伝子が見つかった。この中から、藻類で存在しうる数百の遺伝子を推定し、発現変動している遺伝子の選択を行った。次に、限られたサンプル数で、選択した転写因子遺伝子間の初期モデルの構造を推定するために、ベイジアンネットワークを適用した手法を開発した。TAG 蓄積時に特異的に発現している遺伝子群の特定を目的として、栄養条件と培養時間の違いに基づく 10 回の RNA-seq データより、統計学的手法によって TAG 蓄積時に有意に発現する遺伝子を同定した。構造方程式モデリングによるネットワーク推定を行うため、交差相関による初期モデル構築プロセジャーの開発を行った。さらに転写因子による発現制御モデルを構築するため、因子分析を組み込んだネットワーク構築プロセジャーを開発した。

4. 2. 3 代謝パスウェイ解析

機能が確定している配列を収集し、系統解析によるサブファミリー分類を行った。分類されたサブファミリーから保存ドメインを同定し、プロファイル HMM を作成した。作成したプロファイル HMM を新規ゲノムである *F. solaris* に適用し、ホモログの系統関係を明らかにすることで、決定された遺伝子群の機能を推定した。推定した遺伝子セットについて系統的な特徴を調べるために比較ゲノム解析を行った。また、上記で推定された遺伝子群の機能を元に、TAG 代謝経路・合成酵素遺伝子群の抽出を行った。抽出した酵素が TAG 代謝・合成経路上でどこに位置するかを明らかにし、TAG の代謝マップの再構築を行った。

推定遺伝子について比較ゲノム解析を行ったところタンパク質ファミリー数は 2,870 であり、分裂酵母 *S. cerevisiae* (2,910 ファミリー) に近いことが分かった。さらに、系統比較から、1) *F. solaris* ゲノムは多くのタンパク質ファミリーを他の生物種と共有している、2) 既報ゲノムの遺伝子アノテーション情報を活用できる、ことを確認した。脂肪酸関連酵素に特化した HMM プロファイルを独自作成し、72 個の合成酵素遺伝子を網羅的に推定した。さらに推定した遺伝子から多価不飽和脂肪酸合成経路と TAG 合成経路を再構築した。その結果、1) **本ゲノムには植物由来の脂肪酸不飽和化酵素が含まれており、**

独自に多価不飽和脂肪酸が合成可能であることと、2) 既知のオイル生成関連タンパク質が存在していないこと、が明らかになった。

そこで、高精度化された遺伝子情報、及びゲノム配列情報を元に、TAG 合成時に活性化している代謝経路の推定を行った。第一に、関連遺伝子群の推定を行った。高精度化された遺伝子配列情報を元に KEGG にて登録されている他のモデル生物のゲノム配列情報と BLAST 検索を行い、*F. solaris* 遺伝子群の機能アノテーションを行った。機能が推定された遺伝子群のうち、TAG 生合成に関与すると考えられる代謝経路上に存在する遺伝子群を推定した。次に、推定した遺伝子群について、遺伝子ネットワーク解析で精密化した遺伝子発現情報を元に、Enrichment 解析 (GSEA 解析) を行った。本解析において、機能アノテーションが全体の 30 ~40% 程度しか推定できなかったことから、ブートストラップ法を適用した新規 GSEA 解析手法を開発し、発現が有意に変動していると推定された代謝経路 11 個の抽出を行った。さらに、抽出した代謝経路上において、それぞれの遺伝子の発現状態を反映することで、*F. solaris* 遺伝子の遺伝子発現変動を時間ごとに Tracking する手法を開発した。その結果、グルコースから TAG 生合成に至る最短パスウェイの発見、及び *F. solaris* ではそのパスウェイが活性化している可能性が示唆された (図 8)。

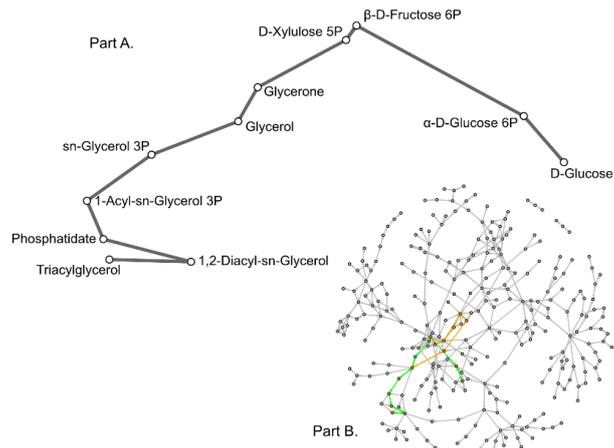


図8 *F. solaris*におけるグルコースからTAG生合成に至るまでの予測最短パスウェイ。Part A: 最短パスウェイの詳細。Part B: 予測パスウェイの全体図。緑線がPart Aの最短パスウェイを示す。

ゲノム比較によって *F. solaris* と *P. tricornutum* の TAG 生産能の違いを明らかにするため、TAG 生産時に活性化している遺伝子群の抽出をそれぞれの生物種で行った。その結果、*F. solaris* と *P. tricornutum* 間で有意に発現が異なっていた 194 遺伝子群のうち、*F. solaris* の 35 遺伝子が特に TAG 生産能に関与している可能性が高いことが示唆された。残りの 159 遺伝子についても *F. solaris* での発現量が低下することによって、他の代謝経路の活性化に関与している可能性がある。

4. 3 高層化培養システムの構築及び最適化 (ヤマハ発動機株式会社 高層化培養グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

屋内閉鎖型培養における培養技術の最大投入による *F. solaris* 由来 BDF(以下、藻体由来 BDF)の生産性の理論限界値 (ポテンシャル)を明らかにすることを第一の目的とした。これらのデータは、「LCA・プロセス」グループの屋外培養との比較解析に利用し、*F. solaris* 由来 BDF 生産の実用化に向けた技術開発課題の導出を目指した。さらに、得られた藻体由来 BDF の燃料規格適合性・燃焼特性を評価することを第二の目的とした。また、現有の大量培養設備における長期的な培養システムのプロセス設計を行うことを第三の目的とした。具体的な研究項目は、以下の3つである。

- 4. 3. 1 中規模リアクタでの培養条件の最適化 (LCA・プロセス G と共同)
- 4. 3. 2 ディーゼルエンジンを用いた実証試験 (エンジン実証 G と共同)
- 4. 3. 3 長期培養システムの実証 (LCA・プロセス G と共同)

4. 3. 1 中規模リアクタでの培養条件の最適化

F. solaris の高密度培養及び高いオイル生産性を実現するため、基本的な培養条件の検討を 1~100 L 容量の中規模リアクタ(フラットパネル型リアクタ)を段階的に利用して実施した。

【1 L スケール】 最初に高密度培養条件の確立を目的とし、1 L スケールで培養条件として培地組成、温度、pH、塩濃度、光照射強度、CO₂ 濃度の検討を行った。まず、培地組成を検討した結果、改変 271 培地を用いることで藻体濃度は 4.6 g/L まで向上した。さらに、各培養条件を最適化したところ、藻体濃度は 6.7 g/L まで向上した (図 9)。

【10~30 L スケール】 次に、培養容量の向上を行うために、リアクタのライトパス(パネルの厚み)の検討によるオイル生産性の最適化を行った。藻体の生育速度はライトパス 4 cm(10 L) > 8 cm(20 L) > 12 cm(30 L)の順に高く、光の遮蔽効果が少ない(ライトパスが短い)ほど生育速度の向上に有効であった(図 10)。また、いずれのライトパスにおいてもプロジェクト目標値である 4 g/L 以上に達することが分かった。一方で、ライトパス 12 cm のリアクタにおいては、藻体のオイル蓄積が誘導されていないことが分かった。この結果から、ライトパス 12 cm では光供給が不十分となり、培地中の窒素源が枯渇せずオイル蓄積が誘導されないものと考えられた。

【50 L & 100 L スケール】 50 L フラットパネル型リアクタ(ライトパス 4 cm)、100 L フラットパネル型リアクタ(ライトパス 8 cm)での培養条件の検討を行った。ライトパス 8 cm では藻体濃度、およびオイル含量のいずれも 4 cm リアクタに比べて低く、リアクタ 1 台当たりの培養容積は2倍になるものの、オイル生産性の面での有効性は見出されなかった。図 11 にライトパス

4 cm の 50-L フラットパネル型リアクタ、及びその検討結果を示す。2週間でオイル含量 50%の藻体が 8.4 g/L の藻体濃度で得られた。以上より、中規模リアクタの最適ライトパスを 4 cm と決定した。

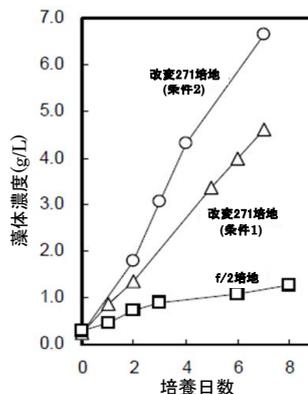


図9 *F. solaris*の培養条件の最適化。改変271培地・条件2 (○)、改変271培地・条件1 (△)、f/2 (通常)培地 (□)

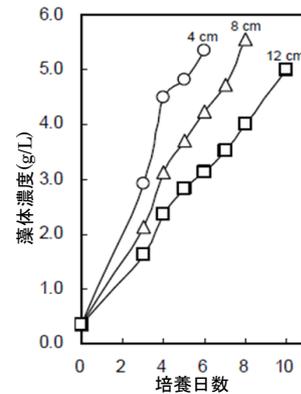


図10 フラットパネル型リアクタでの*F. solaris*の生育におけるライトパスの影響評価。ライトパス: 4 cm (○)、8 cm (△)、12 cm (□)

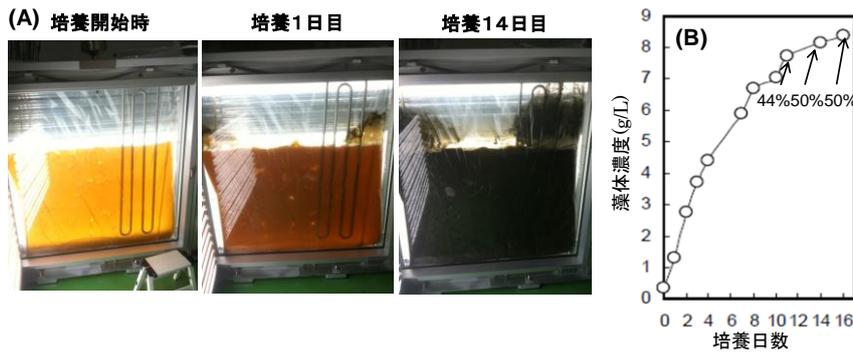


図11 フラットパネル型リアクタ (50 L)による*F. solaris*の生育とオイル含量の評価
 (A): フラットパネル型リアクタの外観
 (B): フラットパネル型リアクタによる生育曲線とオイル含量 (図中に%表示) の評価

4. 3. 2 ディーゼルエンジンを用いた実証試験

BDFの品質規格に関する調査を実施し、B100 (JIS K 2 390) 規格分析手法を選定した。その結果として、実証試験および品質規格分析に必要な BDF 量を 15 kg と決定した。さらに、そのスケールでの藻体からの原料オイル (TAG) の抽出・製造プロセスの構築を行った。BDF の目標量 15 kg の製造に向けて、500 Lスケールの大量培養を行った。生産性の低減につながる藻体培養液の発泡を抑える方法の確立(次項:条件 A)や目的外微生物の混入等の問題解決を図り、2週間以上良好な生育を示す培養方法を確立した(図 12)。BDF 15 kg を半年間で生産できる体制を整え、エンジン燃焼試験に必要な BDF の準備を完了した。BDF のエンジン燃焼試験は、「エンジン実証」グループと連携して遂行した(4. 4に記載)。

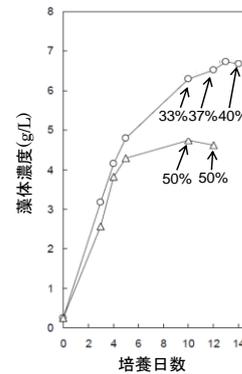


図12 500 Lスケール大量培養における*F. solaris*の生育とオイル生産量の評価。条件A (○)、条件B (△)での生育曲線とオイル含量 (図中に%表示) の評価。

4. 3. 3 長期培養システムの実証

4. 3. 1と4. 3. 2の検討結果を基に、長期培養システムの実証に関して試算を行った。最終的な培養を 500 Lリアクタ 12 台で行うこととし、1年間の長期培養を実施する設定とした。CO₂の供給様式の異なる条件Aと条件Bで比較した結果、最もオイル生産量が高いのは、条件Bにて10日間培養した時(オイル含量50%の時)であった。前述の図 11を基に、年間のBDFの生産量を試算した結果、培養日数10日で藻体回収することで最大の年間オイル生産量が達成されることが明らかとなった。図 13にフラットパネル型リアクタを用いた閉鎖培養における年間オイル生産性の算出方法を示す。年間オイル生産性は、培養容量、稼働パネル数に依らず、藻体濃度と培養日数にのみ依存することが分かる。この式から導かれるバイオマスとオイルの年間生産性は、それぞれ 76.5 t/ha/year、33.6 t/ha/year であった。この時のエネルギー変換効率は1.6%であった。

ここで、人工光を用いた屋内培養においては、人工光照明装置の技術革新が各種パラメータの向上、ひいてはコストダウンに重要となる。そこで、将来技術と

年間バイオマス生産量 (M)は

$$M = C \times V \times R \quad \dots(1)$$

1稼働に使う500 Lフラットパネル数(N)とすると

$$V = 500N$$

年間稼働回数 (R)は、

$$R = (N_{max} \times W) / (D + 1) / N$$
 と表される。(D + 1)は回収工程を含む。

$$R = (96 \times 365) / (D + 1) / N$$

以上から、式(1)は以下のように表される。

$$M = C \times 500 \times 35040 / (D + 1) [g]$$

$$M = 17.52C / (D + 1) [ton]$$

年間オイル生産量 (X)とすると、

$$X = M \times O / 100$$

$$X = 17.52C / (D + 1) \times O / 100$$

実際に図11の培養結果を基に計算すると、

$$X = 17.52 \times 7.2 [C] / (10 [D] + 1) \times 0.44 [O] / 100$$

$$X = 5.05 [ton/year]$$
 培養設備の敷地面積は1500 m²であることから、
年間オイル生産性は33.6 ton/ha/yearとなる。

図13 バイオリアクタを用いた年間オイル生産量の算出

してLED照明を投入した場合の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。*F. solaris* の光合成作用スペクトルについて調べ、本株に最適な緑(525 nm):赤(660 nm):橙(590 nm):青(470 or 450 nm)=3:1:1:1(搭載比率)のLEDパネルを作製した。この搭載比率のLEDパネルを用いて扁平フラスコを用いた培養試験を実施したところ、強光($300 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)及び弱光($55 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)のいずれの場合においても、蛍光灯と比較して、増殖速度および最高藻体到達濃度のいずれにも差は認められなかった。しかし、弱光条件において、周波数を1000 Hzに固定しduty比を50および33%に変えた場合に連続光照射(duty 100%)と同等の生育を示した。以上の結果から、人工光照明投入エネルギーを1/3に減らしても、従来と同等の生産性が得られることが示され、屋内培養におけるエネルギー収支の向上に極めて有望な手段であると考えられた。

4. 4 エンジン実証試験

(日本大学 エンジン実証グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

F. solaris から抽出し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得られた脂肪酸メチルエステル（藻体由来 BDF）のディーゼルエンジン用燃料としての有用性及び性状を明らかにした。「高層化培養」グループで調製した藻体由来 BDF の燃料としての品質を評価し、機械式燃料噴射装置定常運転試験と自動車用のコモンレール式燃料噴射装置定常運転試験を行った。

- 研究項目
- 4. 4. 1 藻類由来 BDF の品質評価（高層化培養 G と共同）
 - 4. 4. 2 機械式燃料噴射装置定常運転試験（高層化培養 G と共同）
 - 4. 4. 3 コモンレール式燃料噴射装置定常運転試験（高層化培養 G と共同）

4. 4. 1 藻類由来 BDF の品質評価

藻類由来 BDF の要求品質の分析結果を表 4 に示す。参考のため JIS K 2204 軽油に規定される軽油要求品質（規格値）を示す。藻体由来 BDF は、軽油混合用の脂肪酸メチルエステル要求品質の内、エステル分、硫黄分及び水分が規定値を満足しない。硫黄分は実験系における混入であることが考えられたため、参考データとしてのみ掲載し、考察の対象外とした。エステル分の不足は、エステル交換する際のメタノールとの反応が不十分であったためと考えられる。よって、エステル交換反応を十分に行うことで改善できる。また、水分に関してはエステル交換後に藻体由来 BDF を十分に加熱乾燥することで改善できる。藻体由来 BDF の燃料性状を軽油と比較した場合、軽油混合用の脂肪酸メチルエステル要求品質には規定はないものの、流動点及び目詰まり点が軽油要求品質よりも低く、寒冷地での使用には注意を要する可能性がある。

以上のことから、藻体由来 BDF は日本工業規格に規定される BDF 要求品質を十分に満足し、自動車用軽油に混合するための脂肪酸メチルエステルとして実用的に使用できるものと考えられる。

表 4 藻体由来 BDF の燃料性状

試験項目	試験結果	規格値	軽油規格値	試験方法
エステル分 [wt.%]	92.9	95.6以上	-	EN14103
密度@15°C [g/cm ³]	0.8804	0.860-0.900	0.86以下	JIS K 2249-1
動粘度@40°C [mm ² /s]	3.958	3.50-5.00	2.5以上(@30°C)	JIS K 2283
引火点 [°C]	158.5	120以上	50以上	JIS K 2265-3
硫黄分 [wt.%]	0.0024	0.0010以下	0.0010以下	JIS K 2541-6
10%残留炭素 [wt.%]	0.20	0.3以下	0.1以下	JIS K 2270-2(減圧法)
セタン価 [-]	53.6	51.0以上	45以上	JIS K 2280
硫酸灰分 [wt.%]	0.000	0.02以下	-	JIS K 2272
水分 [mg/kg]	624	500以下	-	JIS K 2275
固形不純物 [mg/kg]	2.0	24以下	-	EN 12662
銅板腐食(3h at 50°C) [-]	1	1以下	-	JIS K 2513
酸化安定度 [h]	8.8	-	-	EN14112
酸価 [mgKOH/g]	0.27	0.50以下	-	JIS K2501
ヨウ素価 [gI ₂ /100g]	93	120以下	-	JIS K 0070
リノレン酸メチル [wt.%]	2.3	12.0以下	-	EN 14103
メタノール [wt.%]	0.01未満	0.20以下	-	EN 14110
モノグリセライド [wt.%]	0.01未満	0.80以下	-	EN 14105
ジグリセライド [wt.%]	0.01未満	0.20以下	-	EN 14105
トリグリセライド [wt.%]	0.01未満	0.20以下	-	EN 14105
浮遊グリセリン [wt.%]	0.01未満	0.02以下	-	EN 14105
全グリセリン [wt.%]	0.01未満	0.25以下	-	EN 14105
金属(Na+K) [mg/kg]	1	5.0以下	-	EN 14538
金属(Ca+Mg) [mg/kg]	1未満	5.0以下	-	EN 14538
リン [mg/kg]	1未満	10.0以下	-	EN 14107
流動点 [°C]	5.0	-	-7.5以下	JIS K 2269
目詰まり点 [°C]	5	-	-5以下	JIS K 2288
真発熱量 [J/g]	37040	-	-	JIS K 2279

4. 4. 2 機械式燃料噴射装置定常運転試験

実験に使用した装置の概略図を図 14 に示す。この実験装置は、供試機関、電気動力計及び各種測定機器によって構成される一般的なディーゼルエンジン出力特性測定装置である。実験に使用したディーゼルエンジンの主な仕様を表 5 に示す。藻類由来 BDF の燃焼試験には供試機関、電気動力計及び各種測定機器によって構成される一般的なディーゼルエンジン出力測定装置を用いた。供試機関には 4 サイクル小型冷単気筒直噴ディーゼルエンジンで、排気量 291 [c.c.] のものを用いた。

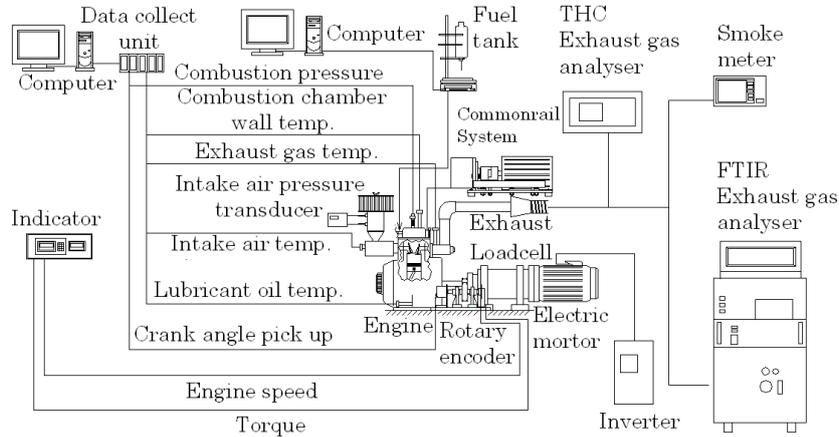


図 14 実験装置概略図

表 5 供試機関仕様

製造業者	ヤンマーディーゼル株式会社	圧縮比	20.6:1	
機関名称	L48V6-M	出力(最大/定格)	3.3/3.0 [kW]	
形式	立型空冷 4 サイクル単気筒ディーゼルエンジン	バルブ配置	OHV	
		バルブ数	2	
燃焼方式	直接噴射式	燃料噴射時期	17.5±0.5 [deg. BTDC]	
冷却方式	強制空冷	燃料噴射圧力	200 [kgf/cm ²]	
燃焼室形状	リエントラント型	乾燥重量	32 [kg]	
シリンダ数	1	外形寸法	全長	332 [mm]
ボア×行程	70×57 [mm]		全幅	389 [mm]
排気量	219 [c.c.]		全高	418 [mm]

【圧縮着火及び燃焼】 100 及び 500 [kPa] の各正味平均有効圧力の指圧線図において、藻体由来 BDF を軽油へ混合した場合、若干着火時期が早くなる傾向が示されるものの、藻体由来 BDF の質量混合割合の変化による顕著な着火時期への影響は示されていない。また、藻体由来 BDF100 [wt.%] でディーゼルエンジンを駆動した場合においても、どちらの平均有効圧力においても、軽油とほぼ同等の指圧線図が得られた。従って、藻体由来 BDF は軽油と混合して使用した場合においても、軽油代替燃料として使用した場合においても、圧縮着火特性にほとんど影響を与えない。熱発生率も同様に、藻体由来 BDF の質量混合割合の変化による顕著な影響は示されず、藻体由来 BDF 100 [wt.%] の熱発生率もどちらの平均有効圧力においても、軽油とほぼ同等である。従って、藻体由来 BDF は燃焼特性にほとんど影響を与えない。

以上より、**圧縮着火及び燃焼の観点から、藻体由来 BDF を軽油代替燃料として使用した場合に、燃料噴射装置や燃料噴射時期等を変更することなしに実用的に使用できる。**

【排ガス成分】 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、藻体由来 BDF 質量混合割合の影響をほとんど受けず、全負荷領域において軽油とほぼ同等である。全炭化水素濃度は、藻体由来 BDF 質量混合割合が増加するに従って減少するものの、スモーク濃度は全負荷領域において藻体由来 BDF 質量混合割合が増加するに従って増加する。

【出力変動】 指圧線図の燃焼解析結果より、どの負荷領域においても最高燃焼圧力は藻体由来 BDF 質量混合割合の影響をほとんど受けず、軽油とほぼ同等であり、正味平均有効圧力の増加に従って一様に増加する。最高圧力変動率は、藻体由来 BDF 100 [wt.%]の場合を除き、どの質量混合割合においても全負荷領域において約 1.5 [%]であり、また藻体由来 BDF 100 [wt.%]の場合でも最高圧力変動率は約 3 [%]である(図 15)。

また、図示平均有効圧力変動率は、若干のばらつきは示されるものの、どの正味平均有効圧力においても藻体由来 BDF 質量混合割合の明確な影響は示されない。よって、藻体由来 BDF 混合軽油を用いた場合、出力変動の少ない安定した機関運転が可能である。

従って、藻体由来 BDF を軽油と混合してディーゼルエンジンを運転した場合、どのような藻体由来 BDF 質量混合割合においても、軽油とほぼ同等の圧縮着火燃焼特性と機関性能が示され、また安定した機関運転が可能であることを実験的に確認することができた。

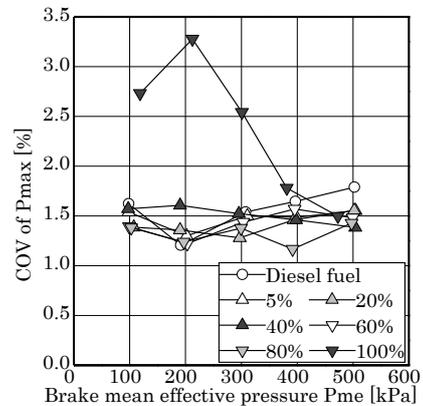


図 15 機械式燃料噴射装置定常運転試験の燃焼解析結果

4. 4. 2 コモンレール式燃料噴射装置定常運転試験

藻体由来 BDF を 5 [wt.%]混合した軽油を用いて、コモンレール式燃料噴射装置定常運転試験で得られた指圧線図の代表例(正味平均有効圧力(BMEP):100 [kPa])を図 16 に示す。試験したどちらの平均有効圧力(100 & 400 [kPa])においても、またどの燃料噴射時期においても、藻体由来 BDF の着火時期は軽油と比較して若干進角することが示されている。よって、コモンレール燃料噴射装置のような高圧燃料噴射装置を用い燃料の微粒化を促進すると、藻体由来 BDF 混合軽油の圧縮着火特性は軽油と比較して改善されると考えられる。

以上のように、自動車用コモンレール燃料噴射装置は問題なく作動したことから、藻体由来 BDF は日本工業規格 JIS K 2390 に規定される 5 [wt.%]を軽油と混合し、自動車用ディーゼルエンジンへ適応できる。

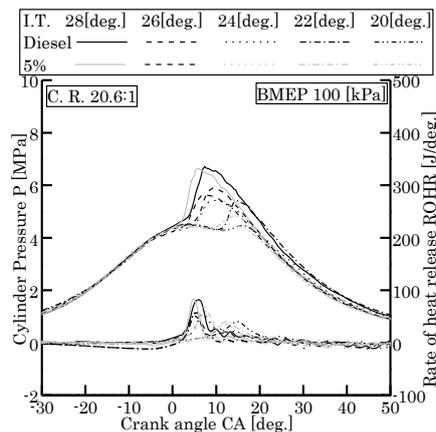


図 16 コモンレール式燃料噴射装置定常運転試験の指圧線図(圧縮比20.6:1)

4. 5 スケールアップ培養の実証実験及びLCA 評価 (電源開発株式会社 LCA・プロセスグループ)

(1)研究実施内容及び成果

F. solaris の 200 L スケール以上での屋外開放型リアクタを設計し、各培養条件におけるバイオマス生産性、BDF 生産性を評価し、エネルギー収支比 (EPR) の分析を実施した。さらに、屋内培養で用いたバイオリアクタを使用し、屋外培養を行うことで屋内及び屋外培養におけるギャップ分析を行った。これにより日本独自のバイオ燃料生産技術の確立のためのインフラ整備を進め、2030 年実用化を目指して必要となる基盤技術を確立する。

- 研究項目 4. 5. 1 屋外開放型リアクタの設計
4. 5. 2 大規模培養の検証、LCA 評価
(微細藻類分子育種グループ、高層化培養グループと共同)

4. 5. 1 屋外開放型リアクタの設計

【屋外開放型培養の基礎データ】 屋外で微細藻類を大量培養する上では、関連設備の滅菌プロセスが省略できることが望ましい。

そこで、水道水を用いた無滅菌培地や無滅菌リアクタによる *F. solaris* の屋外培養を行った結果、*F. solaris* が優先的に生育できることが示された。また、屋内での同実験条件と同様の藻体濃度、オイル含量であった(表 6)。このことから、以降の実験では、すべて滅菌プロセスを省略した。ここで、培養実施期間において、水温が 40°C を超える日が 2

日あったが、藻体が死滅することなく培養できたことから、高温耐性を有することが示された。プロジェクト期間の内、平成 22 年度に原虫発生が生じた。その原因追求と防止策については今後の課題である。本培養条件におけるエネルギー変換効率を算出した。入射エネルギーは、リアクタに照射された日照量の実測値 (7.9 MJ) である。その結果、入射エネルギーの 1.7% がバイオマスに変換されたことが示唆された。このことから、同培養条件で比較的高いエネルギー変換が行われていることが分かった。

【リアクタの設置】 自然光を利用した *F. solaris* の培養データの取得を目的として、培養温室、及び 500 L クラスの培養試験装置 (レースウェイ型、カラム型、フラットパネル型リアクタ) を設計し、電源開発株式会社若松研究所内に設置した(図 17)。

表6 *F. solaris*の屋外培養の基礎データ(6月期)

	屋内閉鎖型	屋外開放型
■培養槽		
形状	フラットパネル	フラットパネル
容量	16 L	16 L
■培養条件		
・培地	f/2培地	f/2培地
・光強度	300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	$\sim 1,100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
・温度	25°C	$\sim 42^\circ\text{C}$
■生産性		
藻体濃度	0.3 g/L	0.3 g/L
オイル含量	44%	46%

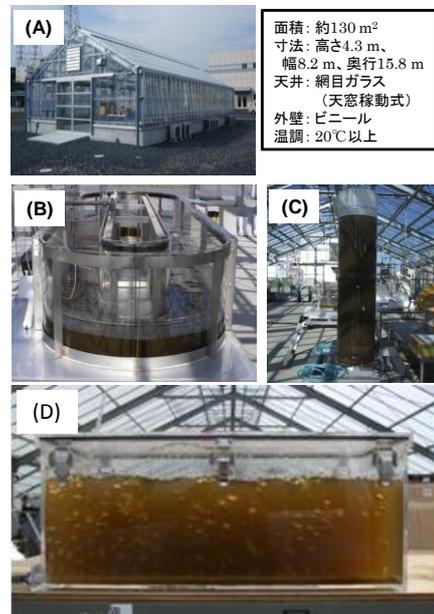


図 17 若松研究所内に設置した培養温室及びリアクタの外観

- A: 培養温室
B: レースウェイ型リアクタ
C: カラム型リアクタ
D: フラットパネル型リアクタ

4. 5. 2 大規模培養の検証、LCA 評価

【長期間培養の実証実験】 2011 年 8

月期～2011 年 11 月期まで *F. solaris* の半回分培養を実施した結果を図 18 に示す。8 月中旬から 11 月中旬までの 3 ヶ月間では、平均日射量変動は、概ね一定に推移していることが分かる。一方で、平均気温は、30°C 付近から緩やかに 15°C 付近まで低下していく傾向があった。藻体濃度は、同じ 3 ヶ月間において、0.2 g/L～0.4 g/L で推移しており、顕著な生産性の低下は見られなかった。11 月中旬以降の水温が 15°C を下回る条件では、藻体濃度の著しい減少が見られた。このことは、屋内の培養条件検討から、15°C 以下において藻体濃度が顕著に減少する結果と一致するものである。以上のことから、*F. solaris* を半回分培養により長期的に維持して培養できることが明らかとなった。表 7 にレースウェイ型リアクタ、カラム型リアクタ及びフラットパネル型リアクタでの藻体とオイルの生産性を示す。本実験を通して、冬季を除く 4 月～11 月にかけて屋外培養できることが確認された。

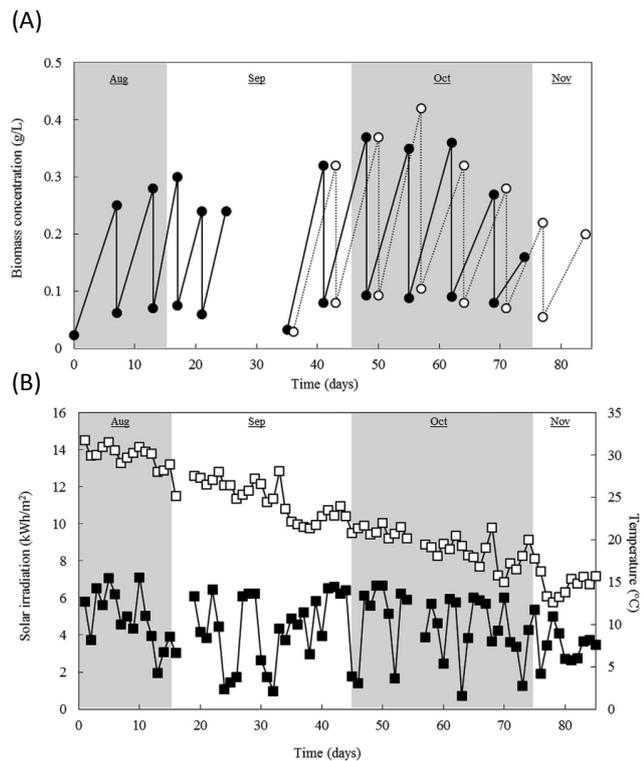


図 18 夏から秋にかけての *F. solaris* の屋外培養(●:レースウェイ型、○:カラム型)におけるバイオマス生産量(A)及び平均気温(□, B)と平均日射量(■, B)。

表 7 各種培養装置の屋外培養における藻体濃度、オイル含有量

	レースウェイ型		カラム型		パネル型	
	藻体濃度 (g/L)	オイル含量 (wt%)	藻体濃度 (g/L)	オイル含量 (wt%)	藻体濃度 (g/L)	オイル含量 (wt%)
春季						
H23年4月～6月	0.21±0.02	8.9±3.9	—	—	—	—
H24年4月～6月	0.18±0.04	17.3±2.4	0.42±0.08	33.8±12.8	—	—
H25年4月～6月	—	—	—	—	0.7±0.3	36.2±10.9
夏季						
H23年7月～9月	0.31±0.09	12.5±2.9	0.35	37.7	—	—
H24年7月～9月	0.31±0.04	14.8±6.5	0.57±0.13	17.8±4.8	—	—
H25年7月～9月	—	—	—	—	0.7±0.1	25.5±4.5
秋季						
H23年9月～11月	0.33±0.05	20.7±4.1	—	—	—	—
H24年9月～11月	—	—	0.29±0.09	33.5±6.1	—	—
H25年9月～11月	—	—	0.50±0.19	20.4±9.1	0.5±0.1	27.8±4.5
通期平均	0.27±0.1	14.8±4.5	0.46±0.1	27.1±8.9	0.6±0.1	29.8±5.6

【オイル抽出プロセスの検討】

回収プロセスの低エネルギー化、スケールアップ、連続処理が可能な方法であることを考慮し、凝集剤による藻体回収を選定した。オイル抽出プロセスの検討では、湿藻体からのオイル抽出が可能であることが分かり、スケールアップ、連続処理に優れる方法としてヘキサソール/メタノール二層溶媒を用いた抽出方法を確立した。従来までの乾燥藻体に対しヘキサソールを加え破碎することにより抽出可能なオイル量を 100%とした場合、湿藻体に二層溶媒を添加し、攪拌することで抽出可能なオイル量は 96%であり、同程度の抽出効率であった。同方法は、乾燥プロセスに必要な投入エネルギーを省くことの出来る方法として優位である。

【ギャップ分析】 屋内培養とのギャップ分析を行うため、フラットパネル型リアクタを用いた屋外培養を行った。このフラットパネル型リアクタは屋内で試験されたライトパス 8 cm、内容積 100 L を使用した。フラットパネル型リアクタを用いた培養では、藻体濃度は 0.5~0.7 g/L、オイル含量は最大 36%に達することが示された。フラットパネル型リアクタは他のリアクタに比べ、ライトパスが短いことにより比較的高い藻体生産性及びオイル含有量が得られたと考えられる。各リアクタで屋外培養した時のエネルギー変換効率の平均は、レースウェイ型:1.9 ± 0.7%、フラットパネル型:1.7 ± 0.5%となった。いずれも屋内でのエネルギー変換効率(1.6%; 4. 3. 3)と同レベルであった。フラットパネル型リアクタを用いた屋内及び屋外培養で得られた数値を比較した結果、**屋外培養におけるオイル生産性の制限因子は主に CO₂ 供給量と日射量(照射面積)の律速によるものと考えられた。**

【LCA の評価/BDF 生産性】

最も粗放的なレースウェイ型リアクタを用いたオイル生産性の試算を行った。170 kL のレースウェイ型リアクタ 7 基(総培養容積:1190 L)を備えた大規模培養設備(設置総面積:1.4 ha)を設置したことを仮定し、BDF 生産性を試算した。年間稼働日数を 350 日とし、7 基のリアクタのうち、日量で 400 kL の培養液を回収するとした。また、得られる藻体濃度は 0.5 g/L、オイル含量は 25%とした。このとき、1リットルあたりの BDF 生産性は、0.5 g x 0.25 = 0.125 g [1]である。400 kL の培養液を 350 日間回収するため、年間で回収する総培養液容量は、400 x 350 = 140,000 kL [2]である。[1]、[2]より、BDF 生産性は、17,500 kg ≒ 17.5 t となる。設置総面積 1.4 ha であることから、**年間 BDF 生産性は、17.5 t / 1.4 ha = 12.5 t/ha** である。これ以上の BDF 生産性の向上のためには、屋外での微細藻類のエネルギー変換効率の向上、または変異体作出によるオイル含量の向上が必要であると考えられた。

ここで、微細藻類分子育種グループで得られたグリセロールキナーゼ遺伝子を強発現した変異体と未利用資源のグリセロールを利用したと仮定すれば、**1.6 倍のオイル生産性の向上が見込まれる(12.5 t/ha/year x 1.6 = 20 t/ha/year)**。また、脂質蓄積における律速酵素の遺伝子を導入した変異体を用いた場合は、約 2 倍のオイル蓄積速度を有するため、さらに年間 BDF 生産性は向上するものと期待される。ただし、遺伝子組み換え体の屋外での利用の制限があるため、屋外閉鎖型システムの導入やゲノム編集技術の活用による遺伝子組み換え体利用の制限を回避する方法論の確立が望まれる。また、4 月~11 月の BDF 生産性を年間通して実現できることを前提条件としたが、冬季にも BDF 生産性を維持できるようにするため、好冷性のオイル生産微細藻類の利用などによる安定生産への取り組みが望まれる。

【LCA の評価/EPR】

上記の結果を基に、レースウェイ型リアクタ 7 基を 5 セット配置した時の BDF 生産性に基づき、投入エネルギーを試算し、EPR を算出した。グリセロールキナーゼ遺伝子を強発現した変異体をオイル生産に利用したと仮定すると、オイル生産性が向上し、EPR は 1 を上回ると試算される。

F. solaris を用いた BDF 生産性を図 19 に概略する。屋外開放型リアクタを用いた年間オイル生産性は 12.5 t/ha に達した。この値は、現在のパーム油の生産性(6 t/ha)の約 2 倍の生産レベルである。一方で、東京都の年間日射量と微細藻類のエネルギー変換効率(1.7%; 実測値)から年間 BDF 生産性(理論計算値)を算出した結果、15 t/ha である。つまり、年間オイル生産性は、屋外・自然光下での上限値と同レベルである。このことは、我が国において自然

光下で微細藻類により生産できるオイルの理論上限値を示す指標となり、今後の国内外の類似研究、開発試験のマイルストーン値となると期待される。また、BDFの生産プロセスの副産物であるグリセロールを積極的に利用することで、光合成の限界を超えるBDF生産性（20 t/ha/year）を実現できるものと期待される。

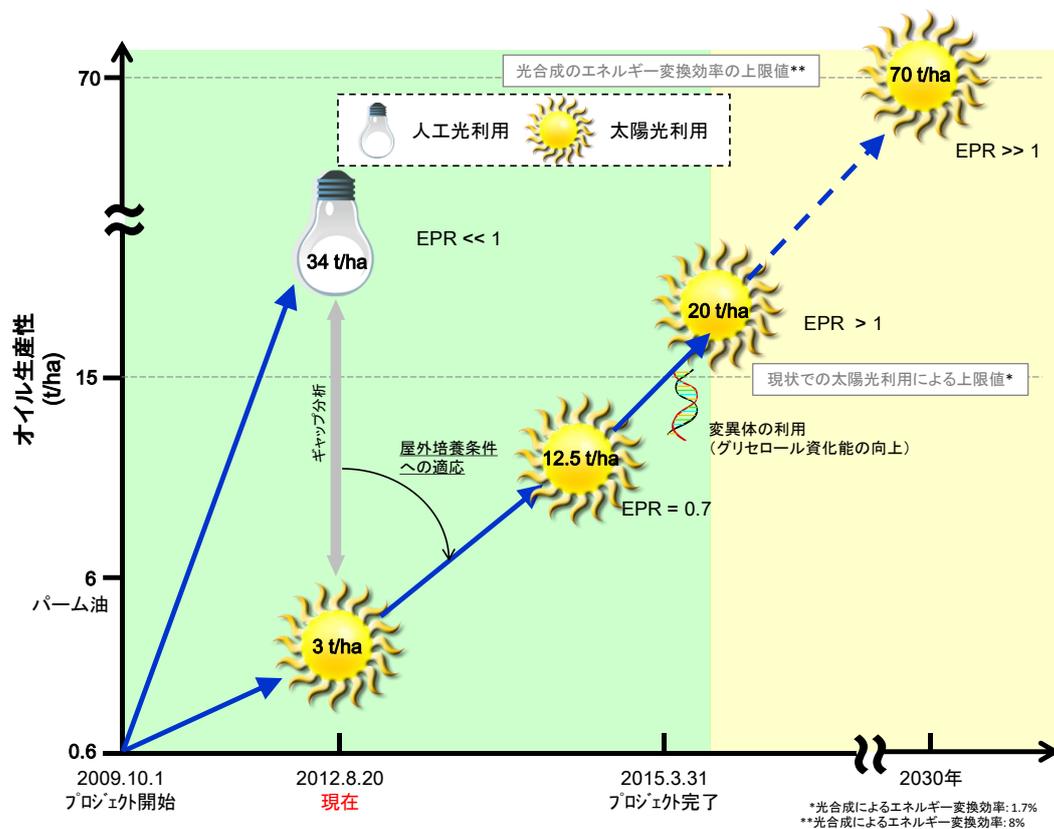


図 19 本プロジェクトにより達成した*F. solaris*を用いたBDF生産性

§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 32 件)

1. Tsuyoshi Tanaka, Yoshiaki Maeda, Alaguraj Veluchamy, Michihiro Tanaka, Heni Abida, Eric Maréchal, Chris Bowler, Masaki Muto, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Takeaki Taniguchi, Yorikane Fukuda, Michiko Nemoto, Mitsufumi Matsumoto, Pui Shan Wong, Sachiyo Aburatani and Wataru Fujibuchi "Oil Accumulation by the Oleaginous Diatom *Fistulifera solaris* as Revealed by the Genome and Transcriptome" *The Plant Cell*, vol. 27, No.1, pp.162-176 (2015)
2. Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Yue Liang, Tomoko Yoshino, Mitsufumi Matsumoto and Tsuyoshi Tanaka "Enhancement of glycerol metabolism in the oleaginous marine diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 to improve triacylglycerol productivity" *Biotechnology for Biofuels*, doi:10.1186/s13068-014-0184-9 (2015)
3. Masahito Hosokawa, Masahiro Ando, Shoichiro Mukai, Kyoko Osada, Tomoko Yoshino, Hiro-o Hamaguchi & Tsuyoshi Tanaka "In vivo live cell imaging for the quantitative monitoring of lipids by using Raman microspectroscopy" *Analytical Chemistry*, vol. 86, No.16, pp.8224-8230 (2014)
4. Yoshihiko Sunaga, Yoshiaki Maeda, Takashi Yabuuchi, Masaki Muto, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka "Chloroplast-targeting protein expression in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 toward metabolic engineering" *Journal of Bioscience and Bioengineering*, doi: 10.1016/j.jbiosc.2014.06.008 (2014)
5. Mitsufumi Matsumoto, Shigeki Mayama, Michiko Nemoto, Yorikane Fukuda, Masaki Muto, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga & Tsuyoshi Tanaka "Morphological and phylogenetic analysis of the high-triglyceride producing marine diatom, *Fistulifera solaris* sp. nov" *Phycological Research*, doi: 10.1111/pre.12066 (2014)
6. Yoshiaki Maeda, Yoshihiko Sunaga, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka "Oleosome-associated protein of the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* contains an endoplasmic reticulum-targeting signal sequence" *Marine Drugs*, vol.12, No.7, pp.3892-3903 (2014)
7. 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*, vol.117, pp.720-724 (2014)
8. 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*, vol.16, pp.39-44 (2014)
9. 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)
10. Yue Liang, Yoshiaki Maeda, Tomoko Yoshino, Mitsufumi Matsumoto & Tsuyoshi Tanaka "Profiling of polar lipids in marine oleaginous diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580: Prediction of the potential mechanism for eicosapentaenoic acid-incorporation into triacylglycerol" *Marine Drugs*, vol. 12, No.6, pp.3218-3230 (2014)
11. 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*, 1-8, (2014)
12. Tatsuya Saeki, Masahito Hosokawa, Tae-kyu Lim, Manabu Harada, Tadashi Matsunaga & Tsuyoshi Tanaka "Digital cell counting device integrated with a single-cell array" *PLOS ONE*, Vol.9, No.2, e89011 (2014)
13. Toru Honda, Yue Liang, Daichi Arai, Yasuhito Ito, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka "Draft genome sequence of marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain NKBG042902, which harbors a homogeneous plasmid available for metabolic engineering." *Genome Announcements*, Vol.2, No.4, pp. e00704-14 (2014)
14. Yoshiaki Maeda, Yasuhito Ito, Toru Honda, Tomoko Yoshino & Tsuyoshi Tanaka "Inducible

- expression system for the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain NKBG 15041c" *International Journal of Hydrogen Energy*, DOI: 10.1016/j.ijhydene.2014.06.170 (2014)
15. 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)
 16. Sachiyo Aburatani & Hiroyuki Toh; "Structural equation modeling for systems biology." *Encyclopedia of IS&T*, doi: 10.4018/978-1-4666-5888-2.ch044 (2014)
 17. Pui Shan Wong, Michihiro Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Takeaki Taniguchi, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka & Sachiyo Aburatani "Response to oxidative stress enables *Fistulifera solaris* to efficiently produce biofuel" *Proceeding of ABBE2014* (accepted)
 18. Pui Shan Wong, Michihiro Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Takeaki Taniguchi, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Wataru Fujibuchi & Sachiyo Aburatani "Tracking difference in gene expression in a time-course experiment using gene set enrichment analysis" *PLOS ONE*, DOI: 10.1371/journal.pone.0107629 (2014)
 19. 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)
 20. Jean-Francois Pessiot, Pui Shan Wong, Toru Maruyama, Ryoko Morioka, Sachiyo Aburatani, Michihiro Tanaka & Wataru Fujibuchi "The impact of collapsing data on microarray analysis and DILI prediction" *Systems Biomedicine*, vol.1, No.3, pp1-7 (2013)
 21. 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)
 22. 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)
 23. Akira Satoh, Kyonosuke Ichii, Mitsufumi Matsumoto, Chihiro Kubota, Michiko Nemoto, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga & Tsuyoshi Tanaka; "A process design and productivity evaluation for oil production by indoor mass cultivation of a marine diatom, *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" *Bioresource Technology*, vol. 137, pp.132-138 (2013)
 24. Sachiyo Aburatani & Wataru Fujibuchi "Application of structural equation modeling for inferring toxicity-dependent regulation in human embryonic stem cells", *Proceeding of Global Health 2012*, pp.27-32 (2012)
 25. Jean-Francois Pessiot, Pui Shan Wong, Toru Maruyama, Ryoko Morioka, Sachiyo Aburatani, Michihiro Tanaka & Wataru Fujibuchi; "The impact of collapsing data on microarray analysis and DILI prediction" *Proceedings of Critical Assessment of Massive Data Analysis 2012*, pp. 21-25 (2012)
 26. Sachiyo Aburatani "Network inference of pal-1 lineage-specific regulation in the *C. elegans* embryo by structural equation modeling" *Bioinformatics*, Vol.8, No.14, pp.652-657 (2012)
 27. Sachiyo Aburatani & Wataru Fujibuchi "Inference of specific gene regulation by environmental chemicals in human embryonic stem cells", *Journal of Molecular Biology Research*, Vol. 2, No.1, pp.54-64 (2012)
 28. Jean-Francois Pessiot, Hyeryung Kim & Wataru Fujibuchi "Pairwise ranking component analysis" *Knowledge and Information Systems*, Vol.33, No.1, pp.1-29 (2012)
 29. Masaki Muto, Yorikane Fukuda, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga & Tsuyoshi Tanaka "Establishment of a genetic transformation system for the marine pennate diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580 - a high triglyceride producer" *Marine Biotechnology*, Vol.15, No.1, pp.48-55 (2012)
 30. Sachiyo Aburatani "Application of structure equation modeling for inferring a serial transcriptional regulation in yeast" *Gene Regulation and Systems Biology*, vol.5, pp.75-88 (2011)
 31. Tsuyoshi Tanaka, Yorikane Fukuda, Tomoko Yoshino, Yoshiaki Maeda, Masaki Muto, Mitsufumi Matsumoto, Shigeki Mayama & Tadashi Matsunaga; "High-throughput

pyrosequencing of the chloroplast genome of a highly neutral-lipid-producing marine pennate diatom, *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580”, *Photosynthesis Research*, vol. 109, Number 1-3, pp. 223-229 (2011)

32. Mitsufumi Matsumoto, Hiroshi Sugiyama, Yoshiaki Maeda, Reiko Sato, Tsuyoshi Tanaka & Tadashi Matsunaga “Marine diatom, *Navicula* sp. strain JPCC DA0580 and marine green alga, *Chlorella* sp. strain NKG400014 as potential sources for biodiesel production” *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol.161, pp.483-490 (2010)

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

1. 松本 光史、田中 剛、野島 大佑、「微細藻類を用いたバイオ燃料生産」配管技術、Vol. 56、No. 12、pp.15-20 (2014)
2. Sachiyo Aburatani, Hiroyuki Toh, “Structural Equation Modeling for systems biology”, *Encyclopedia of Information Science and Technology*, Third Edition, Chapter 44: 458-467, International Publisher of Progressive Academic Research, Pennsylvania, USA
3. 松本 光史、執筆項目「微細藻類培養における培養プラントの大規模化に向けた考え方」、微細藻類の体量生産・事業化に向けた培養技術、pp.18-23、2013年6月
4. 田中 剛、田中祐圭、野島大佑、「海洋微細藻類を用いた液体燃料生産技術の現状と今後の展望」、クリーンエネルギー、Vo. 22、No. 11、p37-43、(2013)
5. 田中 剛、根本理子、吉野 知子、「2030年への挑戦“藻類を燃料に”」、太陽エネルギー、Vol. 39、No. 1、pp.27-35 (2013)
6. 田中 剛、吉野 知子、武藤 正記、「海洋バイオマスからのバイオディーゼル燃料生産」化学と生物、Vol. 51、No. 3、pp.183-188 (2013)
7. 佐藤 朗、一井 京之助、「商業的屋内培養システムの開発と産業応用」 微細藻類によるエネルギー生産と事業展望、pp115-120 (2012)
8. 田中 祐圭、田中 剛、「海洋微細藻類を用いた液体燃料生産技術の可能性と今後の展開」*Journal of the Japan Institute of Energy*、Vol.91、pp1161-1165 (2012)
9. 田中 剛、「海洋珪藻の次世代バイオ燃料への応用」*生物工程* Vol.90、pp392-395 (2012)
10. 松本 光史、田中 剛、「微細藻類を用いたバイオ原料・燃料用オイル生産技術開発への挑戦」*環境バイオテクノロジー学会誌*、Vol.12、No.1、pp9-14 (2012)
11. 田中 剛、根本 理子、「藻類から得られるバイオ燃料の可能性と今後の課題」、*未来材料* Vol. 12、No. 3、pp37-43 (2012)
12. 田中 剛、「微細藻類からのバイオ燃料」、*エネルギー・資源*、Vol. 33、No. 3、pp.22-25 (2012)
13. 田中 剛、武藤 正記、松永 是、「海洋微細藻類を用いた液体燃料生産技術の可能性と今後の展望」、*太陽エネルギー*、Vol. 37、No. 5、pp23-28 (2011)
14. 田中 剛、根本 理子、松永 是、「次世代液体バイオ燃料開発に向けた海洋生物資源の活用」、*ケミカルエンジニアリング* Vol. 56、No. 9、pp713-718 (2011)
15. 松本光史、「高オイル産生海洋微細藻類 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の未乾燥藻体からのオイル抽出条件の検討」*H22年第62回日本生物工学会大会トピックス集* (2010)
16. 松本光史、「微細藻類を用いたバイオ燃料生産の将来展望」*電気時報*、10月号、72~77(2010)
17. 竹山春子、松本光史 特集、「微細藻類を用いた炭化水素生産技術」*バイオインダストリー*、6月号、pp34-41(2010)
18. 田中 剛、前田義昌、松永 是、「海洋藻類の燃料生産への応用」*化学工業* Vol.61、No.2、pp.122-127 (2010)

(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 25 件、国際会議 10 件)
(国内)

1. 田中 剛 「藻類バイオ燃料生産」セミナー、(株)技術情報センター、東京・新お茶の水・連合会館 2014年6月19日
2. 田中 剛、吉野知子 ”有用物質生産ホストとしての珪藻”、分子珪藻研究会・スタート

- アップ会議プログラム、ねぎや陵楓閣 (兵庫県)、2013 年 12 月 17 日
3. 田中 剛 “液体燃料製造に向けた海洋バイオマス技術の動向と展望” 第 2 回ネオ・エネルギー技術シンポジウム次世代エネルギー／エネルギー高度利用、三田 NN ホール、2013 年 11 月 22 日
 4. 田中 剛 “液体燃料製造に向けた海洋バイオマス利用の研究と開発” 第 8 回再生可能エネルギー世界展示会 「バイオマス (分科会 6)」東京ビッグサイト、2013 年 7 月 24 日
 5. 田中 剛 “微細藻類の代謝改変によるバイオ燃料生産への挑戦”、2013 年度 生物工学フォーラム、東京農工大学小金井キャンパス、2013 年 7 月 19 日
 6. 田中 剛 “代謝改変に基づく海洋珪藻 *Fistulifera* 属のバイオ燃料生産性の向上”、第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会、沖縄県市町村自治会館、沖縄、2013 年 6 月 2 日
 7. 油谷 幸代、*Inference of Gene Regulatory Network by Structural Equation Modeling*”、*Mathematical Sciences based on Modeling, Analysis and Simulation Seminar*、明治大学、東京、2013 年 2 月 14 日
 8. 藤渕 航、“More Massvie Data for Single Cell Informatics and Next Generation Drug Discovery”、生命情報工学研究センターワークショップ 2012、産業技術総合研究所、東京、2012 年 11 月 2 日
 9. 田中 剛、“生物機能を利用した物質生産/バイオセンシング技術”、バイオセンシング技術及びバイオミネラリゼーションに関するセミナー、国立病院機構名古屋医療センター、愛知、2012 年 10 月 18 日
 10. 田中 剛、“2030 年への挑戦 次世代産業技術～藻類を燃料に～”、太陽光化学部会第 4 回研究講演会、東京理科大学森戸記念館、東京、2012 年 12 月 3 日
 11. 松本 光史、「微細藻類資源の活用と事業化への課題(バイオ燃料生産を事例として)」、特別講演会 微細藻類の産業利用への展望、高知大学朝倉キャンパス、総合研究センター 2F セミナー室、2012 年 3 月 1 日
 12. 松本 光史、「高オイル産生海洋微細藻類を用いたバイオ原・燃料用オイル生産」、環境調和型資源開発を担う環境バイオテクノロジー、第 63 回日本生物工学会大会ワークショップ、東京農工大学、2011 年 9 月 28 日
 13. 松永 是、田中 剛、「海洋生物遺伝資源からの有用化合物・鉱物・燃料探索に向けた挑戦」、第 63 回日本生物工学会大会、東京農工大学工学部、2011 年 9 月 27 日
 14. 田中 剛、「海洋珪藻からの軽油代替燃料の生産」、第 8 回バイオマス変換触媒セミナー 「海洋バイオマス資源化研究の最前線」、高知大学朝倉キャンパス 理学部附属水熱化学実験所 2 F セミナー室、2011 年 7 月 1 日
 15. 田中 剛、「海洋藻類の燃料生産への応用」、第 3 回研究講演会 「人工光合成」、東京理科大学森戸記念館第 1 フォーラム、2011 年 6 月 22 日
 16. 田中 剛、「海洋珪藻の次世代バイオ燃料への応用」、JBA 新資源生物変換研究会シンポジウム「バイオリファイナリーの今、そして未来」、神戸大学百年記念館 (六甲ホール)、2011 年 6 月 17 日
 17. 佐藤 朗、一井 京之助、石倉 正治、「微細藻類を用いた有用物質生産～“ものづくり”の視点から～」、第 14 回マリンバイオテクノロジー学会シンポジウム、静岡、2011 年 5 月 29 日
 18. 田中 剛、「近縁種間比較ゲノム解析に基づくトリグリセリド高生産海洋珪藻の脂肪酸代謝経路の解析」、日本植物生理学会シンポジウム・真核藻類の光合成研究の低炭素社会への貢献を考える～真核藻類の光合成～、2011 年 3 月 20 - 22 日
 19. 松本光史、「藻類バイオマス工業利用 2011」、III. 「藻類バイオマスからの有用物質・燃料の生産技術」～カスケード利用と事業採算性～藻類バイオマスを活用した有用物質・燃料生産のビジネスへの展望、(株)メガセミナー、東京、芝公園、2011 年 3 月 2 日
 20. 田中 剛、「海洋微細藻類のバイオ燃料生産への応用」、(株)技術情報センター「藻類のバイオ燃料生産」セミナー、東京・新お茶の水・総評会館、2010 年 12 月 9 日
 21. 佐藤 朗、「微細藻類産業利用の現状・課題・可能性」、バイオマスエキスポ 2010 環境

- バイオマスフォーラム「E-11 新バイオマス（藻類等）」、東京ビッグサイト 2010 年 11 月 18 日
22. 松本光史、「微細藻類を用いたバイオ燃料生産の展望」、ECO-MANufacture 2010 環境・エネルギー対策技術シンポジウム、東京、東京ビックサイト会議棟 6F、2010 年 9 月 17 日
 23. 田中 剛、「海洋微細藻類を用いたバイオディーゼル燃料生産の可能性」、日本学術振興会産学協力研究委員会 地球環境・食糧・資源のための植物バイオ 160 委員会 第 9 回研究会 「藻類からのバイオ燃料生産の現状と未来」、2010 年 9 月 9 日
 24. 佐藤 朗、「藻類系バイオマスの大量培養技術と生製品の事業化事例～品質の安定化と安定供給、生製品の販路、経済性～」、(株)メガセミナーサービス「Ⅲ. 藻類系バイオマスの培養と工業利用② (有用物質回収編)」セミナー、東京・芝公園 2010 年 8 月 26 日
 25. 田中 剛(東京農工大学)「トリグリセリドを産生する海産珪藻類の探索」日本藻類学会第 34 回大会、筑波大学・筑波キャンパス、2010 年 3 月 21 日

(国際)

1. Tsuyoshi Tanaka “High rate of oil accumulation by the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* and Its biological mechanisms revealed with the proteomic analysis”, 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Daejeon, Korea, 17-20th of November, 2014
2. Tsuyoshi Tanaka, Masaki Muto, Daisuke Nojima, Yue Liang, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino "Multi-omics approach to reveal the mechanisms of lipid accumulation in oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Taipei, 4th-8th of May, 2014
3. Tsuyoshi Tanaka “Biodiesel production by marine microalgae using multistoried cultivation system”, The 1st international work shop of cyanofactory, Tokyo, 6th-7th March, 2014
4. Tsuyoshi Tanaka, “Whole genomic analysis and metabolic engineering of oleaginous diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580” International Conference on Bio/Mimetic Solar Energy Conversion 2013, Osaka, 23rd November, 2013
5. Tsuyoshi Tanaka “Metabolic engineering of marine oleaginous diatom towards biofuel production” 10th International Marine Biotechnology Conference, Brisbane, 12th November, 2013
6. Tsuyoshi Tanaka, “Multi-omics analysis of oleaginous marine diatom” The 1st Korea-Japan Microalgae Symposium, Microalgae: Challenges and Solutions for Sustainable Biofuels and Bioproducts, Daejeon, Korea, 11th October, 2013
7. Tsuyoshi Tanaka, Masaki Muto, Yoshihiko Sunaga, Daisuke Nojima, Yue Liang, Michiko Nemoto, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, “Multi-omics approach for the elucidation of triacylglycerol (TAG)-accumulation mechanism in the oleaginous diatom *Fistulifera* sp.” EMBO workshop, The Molecular Life of Diatoms, Paris, 27th June, 2013
8. Tadashi Matsunaga, Tsuyoshi Tanaka “Biofuel Production by Marine Microalgae”, The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Kochi City Cultural Plaza “CUL-PORT”, Kochi, Japan, 13-16 July 2012
9. Tadashi Matsunaga “Possible potential of biofuel production by microalgae” Microalgae Biotechnology –Foods · Environment · Energy–, The University of Tokyo, 31st of May, 2010
10. Akira Satoh “Development and application of commercial scale indoor cultivation system for microalgae in functional foods industry” Microalgae Biotechnology –Foods · Environment · Energy–, The University of Tokyo, 31st of May, 2010

② 口頭発表 (国内会議 22 件、国際会議 15 件)
(国内)

1. 野島 大佑, 前田 義昌, 吉野 知子, 田中 剛, ”オイル高蓄積珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 株のオイルボディのプロテオーム解析” 第 8 回バイオ関連化学シンポジウム, 岡山大学津島キャンパス一般教育棟, 岡山, 2014 年 9 月 11 日-9 月 13 日

2. 長田 響子、前田 義昌、須永 吉彦、吉野 知子、松本 光史、田中 剛、” 栄養枯渇条件下における *Fistulifera solaris* のトランスクリプトーム解析” 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 三重大学生物資源学部校舎, 三重, 2014 年 5 月 31 日 - 6 月 1 日
3. 前田 義昌、根本 理子、武藤 正記、吉野 知子、田中 剛、”油脂高蓄積珪藻からの新規珪殻タンパク質の同定” 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 三重大学生物資源学部校舎, 三重, 2014 年 5 月 31 日 - 6 月 1 日
4. 佐藤 朗、一井 京之助、松本 光史、田中 剛 “*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の屋内大量培養による藻体生産”、第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会、沖縄県市町村自治会館、沖縄、2013 年 6 月 1 日-2 日
5. 武藤正記、田中祐圭、吉野知子、松本光史、田中 剛 “分子育種による海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株のグリセロール資化能の向上”、第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会、沖縄県市町村自治会館、沖縄、2013 年 6 月 1 日-2 日
6. 野島大佑、吉野知子、田中 剛、“海洋珪藻 *Fistulifera* sp JPCC DA0580 株の油滴局在タンパク質の分離と同定”、第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会、沖縄県市町村自治会館、沖縄、2013 年 6 月 1 日-2 日
7. 吉野知子、向井将一朗、安藤正浩、浜口宏夫、長田響子、細川正人、田中剛、“顕微ラマン分光法による海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の脂質イメージング解析”、第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会、沖縄県市町村自治会館、沖縄、2013 年 6 月 1 日-2 日
8. 武藤 正記、久保田 千尋、松本 光史、田中 祐圭、吉野 知子、田中 剛 “高オイル生産海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株における $\Delta 9$ desaturase 遺伝子の機能解析”日本化学会第 93 春季大会、立命館大学びわこ・くさつキャンパス、滋賀、2013 年 3 月 25 日
9. 野島 大佑、根本 理子、吉野 知子、松永 是、田中 剛 “海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株からの効率的な油滴分画法の確立及び油滴局在タンパク質の解析”第 64 回日本生物工学会、神戸国際会議場、兵庫、2012 年 10 月 24 日
10. Kensaku Nemoto, Harry A Moesa, Hirokazu Chiba, Haruko Takeyama, Wataru Fujibuchi, “A search for new xylose metabolic enzymes in soil metagenome by guide clustering and network partitioning, 第 28 回情報処理学会バイオ情報学研究会(BIO28), Tohoku University, 27th of March, 2012.
11. Michihiro Tanaka, “Draft genome analysis provides the design for producing highly neutral lipid in marine pennate diatom, *Fistulifera* sp. JPCC DA0580” CBRC seminar, CBRC, Tokyo, 16th of March. 2012
12. 野島 大佑、根本 理子、吉野 知子、松永 是、田中 剛、「海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株における油滴局在タンパク質のプロテオーム解析」、第 63 回日本生物工学会大会、東京農工大学工学部、2011 年 9 月 27 日
13. Sachiyo Aburatani, "Network inference by structural equation modeling", Cell Functional Analysis in silico Workshop 2011, Kusatsu Seminar House, Gunma University, 19th of August, 2011
14. Sachiyo Aburatani, "A statistical approach for inferring regulatory networks from gene expression profiles", HPCI seminar 2011, CBRC, Tokyo, 2nd of December, 2011
15. Michihiro Tanaka, “Systematic genome-wide analysis of the highly triglyceride production system in *Fistulifera* sp. Stain JPCC DA0580” Cell Functional Analysis in silico Workshop 2011, Kusatsu Seminar House, Gunma University, 19th of August, 2011
16. 武藤 正記、田中 剛、吉野 知子、福田 頼謙、松本 光史、松永 是、「脂肪酸組成改変に向けた海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の形質転換法の確立」、第 14 回マリンバイオテクノロジー学会、静岡、2011 年 5 月 29 日
17. 松本 光史、「高オイル生産海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の藻体回収時の低エネルギー化」、第 14 回マリンバイオテクノロジー学会、静岡、2011 年 5 月 29 日
18. 佐藤 朗、富田 祥之、一井 京之助、石倉 正治、「高オイル産生海洋性ケイ藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の培養条件の至適化に関する検討」、第 14 回マリンバイオ

テクノロジー学会、静岡、2011年5月29日

19. 田中 剛、福田 頼謙、武藤 正記、松本 光史、吉野 知子、松永 是、「デジタル遺伝子発現解析に基づく海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の mRNA 動態解析」、第14回マリンバイオテクノロジー学会、静岡、2011年5月29日
20. 根本 理子、須永 吉彦、武藤 正記、松本 光史、田中 祐圭、吉野 知子、新垣 篤史、松永 是、田中 剛、「RNA-seq に基づく海洋珪藻 *Fistulifera* sp. solaris 株のオイル蓄積機構の解析」、日本化学会第92回春季年会、慶応大学、2011年3月28日
21. 松本光史「高オイル産生海洋微細藻類 JPCC DA0580 株の未乾燥藻体からのオイル抽出条件の検討」、第63回生物工学会大会 宮崎、2010年10月10日
22. 田中 剛、武藤 正記、前田 義昌、福田 頼謙、吉野 知子、松永 是、「トリグリセリド高生産海洋珪藻 JPCC DA0580 株の多種間比較ゲノム解析」、第13回マリンバイオテクノロジー学会大会、広島大学・東広島キャンパス、2010年5月29日

(国際)

1. Yoshiaki Maeda, Daisuke Nojima, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka “Identification of novel oleosome-associated proteins from the oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580”, The 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts, Santa Fe, 15th-18th of June, 2014
2. Masayoshi Tanaka, Masaki Muto, Chihiro Kubota, Akira Satoh, Mitsufumi Matsumoto, Tomoko Yoshino and Tsuyoshi Tanaka “Functional analysis of a key enzyme in PUFA synthesis, $\Delta 9$ desaturase, identified from the oleaginous diatom *Fistulifera*” 10th International Marine Biotechnology Conference, Brisbane, 11th-15th November, 2013
3. Tsuyoshi Tanaka, “Multiple Omics Analysis of the Oleaginous Marine Diatom for Oil Production”, Innovative Bio-Production of Fuels & Chemicals from Renewable, Breakthrough Theastrette, Biopolis, Singapore, 19th-23th January, 2013
4. Sachiyo Aburatani, “Application of Structural Equation Modeling for Inferring Toxicity-Dependent Regulation in Human Embryonic Stem Cells”, Global Health 2012, Venice, Italy, 20th-24th October, 2012
5. Sachiyo Aburatani, “Network Inference of AP pattern formation system in *D. melanogaster*”, BiWO 2012, Tokyo, Japan, , 30th October – 2th November, 2012
6. Jean-Francois Pessiot, Pui Shan Wong, Toru Maruyama, Ryoko Morioka, Sachiyo Aburatani, Michihiro Tanaka, and Wataru Fujibuchi, “The impact of collapsing data on microarray analysis and DILI prediction”, Critical Assessment of Massive Data Analysis 2012, Long Beach, CA, U.S.A., 14th July, 2012.
7. Chihiro Kubota, Masaki Muto, Akira Satoh, Mitsufumi Matsumoto, Masayoshi Tanaka, Tadashi Matsunaga, Tsuyoshi Tanaka, “Isolation and Functional Analysis of Novel Desaturases Involved in Triglyceride Biosynthesis from Oleaginous Marine Diatom *Fistulifera* sp. Strain JPCC DA0580”, The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Kochi City Cultural Plaza “CUL-PORT”, Kochi, Japan, 13th-16th July, 2012
8. Yoshihiko Sunaga, Michiko Nemoto, Masayoshi Tanaka, Mitsufumi Matsumoto, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga, Tsuyoshi Tanaka, “Comprehensive Gene Expression Analysis during Triglyceride Accumulation in Oleaginous Marine Diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580”, The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Kochi City Cultural Plaza “CUL-PORT”, Kochi, Japan, 13th-16th July, 2012
9. Tsuyoshi Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masaki Muto, Michiko Nemoto, Yorikane Fukuda, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Mitsufumi Matsumoto, Tadashi Matsunaga, “Transcriptomic Analysis of the Oleaginous Marine Diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580 toward Biodiesel Production”, The 2nd International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts, the Westin Gaslamp Quarter, San Diego, USA, 10th-13th June, 2012
10. Masaki Muto, Tsuyoshi Tanaka, Yorikane Fukuda, Yoshiaki Maeda and Tadashi Matsunaga, “Establishment of Genetic Transformation Technique for Marine Diatom Strain JPCC DA0580” 9th International Marine Biotechnology Conference, Qingdao, 8th-12th of October, 2009
11. Tsuyoshi Tanaka, Yorikane Fukuda, Masaki Muto, Yoshiaki Maeda and Tadashi Matsunaga,

- “Genome Analysis of Marine Pennate Diatom Strain JPCC DA0580 as a High-Triglyceride Producer” 9th International Marine Biotechnology Conference, Qingdao, 8th-12th of October, 2009
12. Mitsufumi Matsumoto and Tadashi Matsunaga, “Characterization of Marine Diatom JPCC DA0580 as High Neutral Lipid Producer for Biodiesel Production” 9th International Marine Biotechnology Conference, Qingdao, 8th-12th of October, 2009
 13. Tsuyoshi Tanaka, “Prediction of Metabolic Pathways in Marine Pennate Diatom Strain JPCC DA0580 Based on Genome Analysis” The VIIth International Symposium on Inorganic Carbon Utilization by Aquatic Photosynthetic Organisms (CCM7), Awaji, 29th of August – 2nd of September, 2009
 14. Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka and Tadashi Matsunaga “Performance of marine diatom *Navicula* sp. JPCC DA0580 as high lipids producer for biofuel production” Asia Pacific Biochemical Engineering Conference, 24th-28th of November, Kobe, 2009
 15. Akira Satoh “Issues on commercialization of microalgal biodiesel, from a standpoint of a company producing microalgal biomass” Japan-Netherlands Seminar in Tokyo, 26th of October, 2009

③ ポスター発表 (国内会議 19 件、国際会議 24 件)
(国内)

1. 高橋 知里, 武藤 正記, 吉野 知子, 田中 剛, “オイル高蓄積珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 株の遺伝子サイレンシング技術の確立” 第 8 回バイオ関連化学シンポジウム, 岡山大学津島キャンパス一般教育棟, 岡山, 2014 年 9 月 11 日-9 月 13 日
2. Yue Liang, Tomoko Yoshino, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka, “Lipid profiling of an EPA producing oleaginous marine diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 to predict the EPA incorporation into glycerolipids” 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 北海道, 2014 年 9 月 9 – 11 日
3. 武藤 正記, 田中 祐圭, 吉野 知子, 松本 光史, 田中 剛, “オイル高生産微細藻類 *Fistulifera solaris* JPCC DA580 株の glycerol 資化能の向上” 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌コンベンションセンター, 北海道, 2014 年 9 月 9 – 11 日
4. 籾内 貴史, 前田 義昌, 吉野 知子, 田中 剛, “油脂高蓄積珪藻の葉緑体への外来タンパク質輸送技術の確立” 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 三重大学生物資源学部校舎, 三重, 2014 年 5 月 31 日 – 6 月 1 日
5. Pui Shan Wong, Michihiro Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Takeaki Taneguchi, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Wataru Fujibuchi and Sachiyo Aburatani, “Pathway analysis on *Fistulifera* diatom to explore triacylglycerol metabolism”, 第 2 回 生命医薬情報学連合大会, タワーホール船堀, 東京, 2013 年 10 月 29 日 – 31 日
6. 油谷幸代, “構造方程式による遺伝子ネットワーク推定”, 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 兵庫, 2013 年 12 月 3 日 – 6 日
7. 前田 義昌, 根本 理子, 吉野 知子, 田中 剛, “in silico スクリーニングによる *Fistulifera* sp. からの新規珪殻タンパク質の探索”, 第 65 回日本生物工学会大会, 広島国際会議場, 広島, 2013 年 9 月 18 日 – 20 日
8. Yue Liang, Tomoko Yoshino, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka, “Global lipidomic analysis for high neutral lipids and EPA producing marine diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580 toward the understanding of lipid metabolism under nutrition depletion” 第 65 回日本生物工学会大会, 広島国際会議場, 広島, 2013 年 9 月 18 日 – 20 日
9. 向井 将一朗, 細川 正人, 吉野 知子, 田中 剛, 安藤 正浩, 濱口 宏夫, “顕微ラマン分光法による海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の脂質解析”, 第 65 回日本生物工学会大会, 広島国際会議場, 広島, 2013 年 9 月 18 日 – 20 日
10. Pui Shan Wong, Michihiro Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Takeaki Taniguchi, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Sachiyo Aburatani, Wataru Fujibuchi, “Pathway analysis on *Fistulifera* diatom to explore triacylglycerol metabolism”, BiWO2013, Odaiba, Tokyo,

Sep.11th-13th, 2013

11. Michihiro Tanaka, Pui Shan Wong, Sachiyo Aburatani, Yoshihiko Sunaga, Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto, Takeaki Taniguchi, Mitsufumi Matsumoto, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Wataru Fujibuchi, "Draft assembly of the marine pennate diatom, *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580 genome reveals the chromosomal evidence for allopolyploidy in genome structure", BiWO2013, Odaiba, Tokyo, Sep.11th-13th, 2013
12. 長田響子、細川正人、吉野知子、田中剛 "単一細胞パターンニングによる海洋珪藻 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株のオイル蓄積過程のタイムラプス解析" 第 15 回マリンバイオテクノロジー学会大会、沖縄県市町村自治会館、沖縄、2013 年 6 月 1 日-2 日
13. Sachiyo Aburatani, Wataru Fujibuchi, "Inference of Specific Gene Regulation by Environmental Chemicals in Human Embryonic Stem Cells", 第 12 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会、産業技術総合研究所、茨城、2013 年 2 月 5-6 日
14. Michihiro Tanaka, Sachiyo Aburatani, Takeaki Taniguchi, Noriko Nemoto, Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka and Wataru Fujibuchi, "Draft genome sequence of marine diatom, *Fistulifera* sp. Strain JPCC DA0580" BIWO2011, CBRC, Tokyo, of January, 24th-27th, 2012
15. Shohei Maruyama, Yasuo Matusyama, Sachiyo Aburatani, "Construction of an Automatic Extraction System of Transcriptional Regulation in Yeast", 第 35 回日本分子生物学会年会、福岡、2012 年 12 月 11 日
16. 田中 道廣、油谷 幸代、藤渕 航、「海洋微細藻類 JPCC DA0580 株のドラフトゲノム配列」、第 11 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会、産業技術総合研究所、筑波、2012 年 1 月 31-2 月 1 日
17. Sachiyo Aburatani and Wataru Fujibuchi, "Reconstruction of Transcriptional Regulatory Network by Structural Equation Modeling", CBI/JSBi 2011 合同大会, 神戸国際会議場, 2011 年 11 月 8 日
18. 田中 道廣、油谷 幸代、谷口 丈晃、根本 理子、松本 光史、田中 剛、藤渕 航、「海洋微細藻類 JPCC DA0580 株のドラフトゲノム配列」、第 6 回メタボロームシンポジウム、大阪、2011 年 10 月 13-14 日
19. 久保田 千尋、武藤 正記、金原 秀行、柴田 剛、山本 敏博、張 成年、田中 剛、松永 是、「フィルム培養に向けた海洋付着珪藻の探索及びキャラクター化」、第 14 回マリンバイオテクノロジー学会、静岡、2011 年 5 月 28 日

(国際)

1. Kyoko Osada, Yoshiaki Maeda, Yoshihiko Sunaga, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka "Rate - limiting factors of lipid accumulation in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 as revealed by the transcriptome analysis", 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit, Daejeon, Korea, 17-20th of November, 2014
2. Sachiyo Aburatani, "Network inference of transcriptional regulation in mouse embryo stem cells", ICSB2014, Melbourne, September 14th-18th, Australia, 2014
3. Pui Shan Wong, Michihiro Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Takeaki Taniguchi, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka and Sachiyo Aburatani "Response to oxidative stress enables *Fistulifera solaris* to efficiently produce biofuel", ICSB2014, Melbourne, September 14th-18th, Australia, 2014
4. Yue Liang, Yoshiaki Maeda, Yoshihiko Sunaga, Masaki Muto, Tomoko Yoshino, Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka "Understanding of the eicosapentaenoic acid (EPA) synthesis and its incorporation into triacylglycerol (TAG) in marine oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" The 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts, Santa Fe, June 15th-18th, 2014
5. Shoichiro Mukai, Masahito Hosokawa, Yue Liang, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Masahiro Ando, Hiro-o Hamaguchi "Lipid compositional analysis of marine diatom *Fistulifera solaris* strain JPCC DA0580 using Raman microspectroscopy", The Second Taiwan International Symposium On Raman Spectroscopy, Hualien, June 23th-24th, 2014

6. Takuma Tateishi, Yoshiaki Maeda, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka "Expression of heterologous protein onto the high triacylglyceride accumulating marine diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Taipei, May 4th-8th, 2014
7. Daisuke Nojima, Tomoko Yoshino, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto, Tsuyoshi Tanaka "Identification of the oleosome-associated proteins from the marine oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 for elucidation of oleosome dynamics."Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Taipei, May 4th-8th, 2014
8. Yoshiaki Maeda, Daisuke Nojima, Tomoko Yoshino, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto and Tsuyoshi Tanaka, "Proteome analysis of oleosome-associated proteins from the oleaginous marine diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" The 1st international work shop of cyanofactory, Tokyo, March 6th-7th, 2014
9. Takuma Tateishi, Yoshiaki Maeda, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino and Tsuyoshi Tanaka, "Protein display onto the cell surface of *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" Asia Biohydrogen and Bioenergy, Osaka, November 22nd-24th, 2013
10. Kyoko Osada, Masahito Hosokawa, Tomoko Yoshino and Tsuyoshi Tanaka "Time-lapse analysis of oleaginous diatom *Fistulifera* sp. Strain JPCC DA0580 during the triglyceride accumulation using single-cell patterning" 10th International Marine Biotechnology Conference, Brisbane, November 11th-15th, 2013
11. Chisato Takahashi, Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Mitsufumi Matsumoto, Tomoko Yoshino and Tsuyoshi Tanaka "Modification of fatty acid composition by gene silencing of $\Delta 9$ desaturase in oleaginous diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580" 10th International Marine Biotechnology Conference, Brisbane, November 11th-15th, 2013
12. Sachiyo Aburatani, Hiroyuki Toh, "Network inference of AP pattern formation system in *D. melanogaster* by Structural Equation Modeling", The 2nd International Conference on Mathematical Modeling in Physical Sciences (IC-MSQUARE 2013), Prague, Czech Republic, September 1st-5th, 2013
13. Shohei Maruyama, Sachiyo Aburatani, Yasuo Matsuyama, "Automatic estimation of transcriptional regulation of budding yeast by a machine learning method", The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), Tivoli Congress Center, Copenhagen, Denmark, 30th-3rd, August-September, 2013
14. Pui Shan Wong, Michihiro Tanaka, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Takeaki Taniguchi, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Sachiyo Aburatani, Wataru Fujibuchi, "Pathway analysis on *Fistulifera* diatom to explore triacylglycerol metabolism", The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), Tivoli Congress Center, Copenhagen, Denmark, 30th-3rd, August-September, 2013
15. Sachiyo Aburatani, "Estimation of C lineage-specific gene regulation in *C. elegans* embryogenesis by structural equation modeling", The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), Tivoli Congress Center, Copenhagen, Denmark, 30th-3rd, August-September, 2013
16. Yoshiaki Maeda, Daisuke Nojima, Michiko Nemoto, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, "Discovery of novel proteins associated to oil bodies in a diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580" The Molecular Life of Diatoms, Paris, June 25th-28th, 2013
17. Akira Satoh, Kyonosuke Ichii, Mitsufumi Matsumoto, Chihiro Kubota, Michiko Nemoto and Tsuyoshi Tanaka "Commercial-scale evaluation of potential oil productivity in marine diatom, *Fistulifera* sp. JPCC DA0580" APMB2012, Kochi, Japan, 13-16 July, 2012.
18. Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga, and Tsuyoshi Tanaka "Establishment of gene transformation technique of marine pennate diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580 for effective biodiesel production", 112th General Meeting American Society for Microbiology, Moscone center, San Francisco, USA, June 16th-19th, 2012
19. Sachiyo Aburatani and Wataru Fujibuchi, "Inference of transcriptional regulatory network in embryogenesis", Systems Biology: Global Regulation of Gene Expression meeting, Cold Spring Harbor, March 20th-24th, 2012
20. Michihiro Tanaka, Sachiyo Aburatani, Michiko Nemoto, Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka and Wataru Fujibuchi, "High-throughput RNA sequencing reveals the design for

producing highly neutral lipid in marine pennate diatom, *Fistulifera* sp. JPCC DA0580” Systems Biology: Global Regulation of Gene Expression meeting, Cold Spring Harbor Laboratory, March 20th-24th of March, 2012

21. Sachiyo Aburatani, “Network Inference of the serial transcriptional regulation in yeast by Structure Equation Modeling”, ICSB2011, Heiderberg, 29th of August, 2011
22. Hiroshi Sugiyama, Tsuyoshi Tanaka, Yorikane Fukuda, Mitsufumi Matsumoto and Tadashi Matsunaga “Extraction of neutral lipids from wet biomass of marine pennate diatom strain JPCC DA0580” Microalgae Biotechnology –Foods • Environment • Energy–, The University of Tokyo, May 31st, 2010
23. Masaki Muto, Tsuyoshi Tanaka, Hiroshi Sugiyama, Yorikane Fukuda, Yoshiaki Maeda, Mitsufumi Matsumoto and Tadashi Matsunaga “Establishment of gene transfer method for marine pennate diatom strain JPCC DA0580” Microalgae Biotechnology – Foods • Environment • Energy –, The University of Tokyo, May 31st, 2010
24. Tsuyoshi Tanaka, Hiroshi Sugiyama, Masaki Muto, Yoshiaki Maeda, Mitsufumi Matsumoto and Tadashi Matsunaga, “Genetic transformation of marine diatom, *Navicula* sp. JPCC DA0580” 32nd Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Florida, April 19th-22nd, 2010

(4)知財出願

①国内出願 (8件)

1. 「新規珪藻タンパク質及びその利用」田中剛、吉野知子、前田義昌、立石卓馬、平成26年8月4日、特願2014-158749
2. 「形質転換微細藻類及びその培養方法特願」松永是、田中剛、吉野知子、田中祐圭、武藤正記、松本光史、平成25年1月15日、特願2013-4703

その他

②海外出願 (2件)

(5)受賞・報道等

①受賞

- ・ 第16回マリンバイオテクノロジー学会大会優秀ポスター賞、藪内貴史、2014年5月31日-6月1日
- ・ 10th International Marine Biotechnology Conference Poster Prize, Kyoko Osada, 11th-15th November, 2013
- ・ 第15回マリンバイオテクノロジー学会大会優秀ポスター賞、長田響子、2013年6月1日-2日
- ・ GLOBAL HEALTH2012 Best Paper 賞、油谷 幸代・藤渕 航、2013年2月8日

②マスコミ (新聞・TV等) 報道

- 1) 日経バイオテク ONLINE、「農工大と電源開発、GK 遺伝子のノックインで微細藻類の油生産性 1.6 倍、松永学長の代理で武藤氏が講演」。2014 年 9 月 11 日
- 2) 新エネルギー新報、「東京農工大、海洋性藻類活用した BDF 製造技術など研究-日揮や電源開発などと共同研究」、2014 年 4 月 5 日
- 3) フジサンケイビジネスアイ、加速する微細藻類による燃料生産、2012、8 月 15 日
- 4) 松本 光史、「北九州における微細藻類オイル研究について」、TNC テレビ西日本
- 5) 松本 光史、「オイル産生微細藻類研究について」、RKB 福岡放送
- 6) 田中 剛、「2030 年への挑戦・次世代産業技術～藻類を燃料に～」、日経産業新

聞 <11>、平成 22 年 4 月 14 日

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- *Fistulifera* 属の屋外培養研究の結果から、冬季に燃料生産効率が低下することが示された。これを受け、寒冷環境においても安定した燃料生産を実現するために、低温培養可能な好冷性珪藻からの燃料生産プロセスの構築に着手した。平成 25 年度 9 月より NEDO「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（次世代技術研究開発）」事業において、電源開発株式会社を研究代表とするプロジェクト「好冷性微細藻類を活用したグリーンオイル一貫生産プロセスの構築」に参画し、日揮株式会社を含む 3 者で共同的にプロジェクト推進を行っている。年間を通じた屋外培養システム確立することにより、藻類由来燃料の課題である安定的なエネルギー供給を達成することを目的とする。

②社会還元的な展開活動

- 本研究で得られた *F. solaris* JPCC DA0580 株のゲノム情報をデータベース化し、一般公開に向けて準備を進めている。すでにデータベース構築は終了し、関係者内で共有、利用している。現在投稿中の全ゲノム解読に関する学术论文が受理された後、一般に公開する予定である。
- 国内外通じて、珪藻の分子生物学研究が立ち遅れている中、研究代表者が発起人の一人となり平成 25 年度に分子珪藻研究会を立ち上げ、平成 26 年 12 月に第一回分子珪藻学会が開催される運びとなった。
- これから藻類の研究開発を実施する企業、大学関係者に向けたセミナーを実施した。「藻類のバイオ燃料生産」セミナー、東京・新お茶の水・総評会館、2010 年 12 月 9 日「藻類バイオ燃料生産」セミナー、東京・新お茶の水・連合会館 2014 年 6 月 19 日
- 本研究で得られた成果を東京農工大学科学技術展にポスター展示し、一般の方を含めて大きな反響が得られた。今年度も同様に出席する予定である。

§ 5 研究期間中の活動

5. 1 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
2010 年 12 月 9 日	科学技術振興シンポジウム	みらい CAN ホール	200 人	
2013 年 5 月 18-26 日 (9 日間)	研究者招聘 講習会 研究ミーティング(非 公開)	東京農工大 学 小金井 キャンパス	10 人	バイオインフォ関連の講習会、研究進捗報告、及び今後の研究に関するミーティング
2014 年 1 月 31 日	第 5 回公開シンポジウム	コクヨホー ル東京ショ ールーム (東 京)	100 人	研究進捗報告 (ポスターセッション)
2014 年 3 月 7 日	シアノファクトリー ワークショップ	東京農工大 学 小金井 キャンパス	50 人	研究討論及び今後の連携についての意見交換

2014年 7月30日～8 月1日	第9回再生可能エネルギー世界展示会	東京ビッグ サイト	44,210人	研究討論及び今後の連携に ついての意見交換
-------------------------	-------------------	--------------	---------	--------------------------

§ 6 最後に

本プロジェクトは、研究領域が掲げる戦略目標「二酸化炭素排出抑制に資する革新的技術の創出」に向けて、藻類エネルギーのうちバイオディーゼル燃料に特化して、その可能性を探る研究として参画させて頂いた。研究開始当初から、微細藻類を用いたバイオ燃料生産に関する研究が世界各国で進められていたが、現場とはかけ離れたオイル生産性の数値がメディアなどを通じて一人歩きし、具体的な根拠が欠如していた。そのような情勢の中で、本プロジェクトでは、オイル生産性の高い海洋珪藻を用いた BDF 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産官学が一体となり実施してきた。その過程では、平成 23 年度から珪藻ゲノム解析の加速として計算機解析グループの参画によるインフォマティクスの強化や、平成 24 年度からエンジン実証グループの参画による珪藻由来バイオディーゼル燃料のエンジン実証試験を実施するなど、目標達成に向けて着実に研究体制を構築してきた。このような取り組みにより、世界に先駆けてオイル生産微細藻類の全ゲノム解読の完了、オイル蓄積微細藻類では初めてとなる遺伝子組み換え系の確立に成功し、その成果により多くの招待講演の機会や国内外の学術分野における共同研究(国内 3 件、海外 3 件)に発展した。また、研究代表者が所属する東京農工大学において、国際研究拠点となる「マリンオミックス研究拠点」の戦略的研究チームリーダーとして選出され、本プロジェクトの世界展開への期待が高まっている。さらに、屋内及び屋外の培養条件下で得られた培養データの比較からギャップ分析をすることで、屋外培養におけるオイル生産の律速因子を特定し、屋外培養における理論限界値の算出に至った。その成果は、民間企業との共同研究(2 件)、さらに後継プロジェクトとして、上述のように NEDO「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(次世代技術研究開発)」事業に参画するに至っている。本プロジェクトにおいて、このような研究体制を構築し、次につながる成果として展開できたことは、チーム型研究推進事業である CREST 研究が無ければ成し得なかったとあらためて実感している。最後に、本プロジェクト採択直後から今日に至るまで、計り知れない温かいご指導とご厚情を頂きました安井 至総括には、心から感謝の意を表したい。また、本領域のアドバイザーの皆様、CREST 研究プロジェクトを支える JST の方々にもあわせて感謝したい。



2014 年 5 月 研究室メンバーの集合写真



珪藻の通気式培養装置



2013 年 11 月 International Marine Biotechnology Conference で長田響子が Poster prize を受賞。