研究成果報告書

所属機関 東京大学 大学院総合文化研究科
職名 助教
氏名 吉冨 徹

研究テーマ

機能性アルギン酸ハイドロゲルによる微細藻類細胞の大規模培養法の開発

研究報告

1. 研究の背景と目的

近年、地球温暖化ガス削減など環境保全の動きが活発化している。例えば、フランス、イギリスや中国は、将来的にガソリン車を廃止し、電気自動車にシフトするといった報道が増えてきている。しかしながら、電気自動車を動かすためにも発電は必要になります。これまで世界中での発電は、主に化石燃料を用いた火力発電に頼ってきました。近年、地熱や太陽光などの再生可能エネルギーが注目を集めていますが、これらの再生可能エネルギーが将来、現在の火力発電分を担うことは難しいかもしれません。そこで近年、バイオマスを利用した技術開発に注目を集まっています。例えば、JXTG エネルギー（JX エネルギーと東燃ゼネラルが経営統合した会社）は、パームヤシの殻を使った火力発電所を北海道室蘭市に建設している（室蘭バイオマス発電）。バイオマス発電は、カーボンニュートラルな火力発電であり、これまで培った火力発電の技術を転用できるため、次世代の発電技術として期待されています。しかしながら、パームヤシの殻は、インドネシアなどからの輸入品であるためコストがかかる等の課題が解決できません。また耕作地域での環境破壊にもつながる懸念もあることから、新しいバイオマス燃料を作り出す必要があります。そこで私達は、微細藻類に着目しました。微細藻類は、バイオマス燃料として耕作面積当たりの油生産効率が最も高いことが知られています。微細藻類は、海洋や淡水中に生息するミクロンサイズの微生物で、細胞内に脂質を蓄積したり、また細胞外に炭化水素を分泌する種が存在します。この油生産能力は、乾燥重量の 70%に達する種類もあり、次世代のバイオ燃料として期待されています。そこで、大規模な培養システムの構築が必要になります。近年、国内外で微細藻類の大規模培養が試験的に行われています。しかしながら、藻類細胞の大規模培養には下記に示すような様々な問題があり、実用化は難しいという厳しい意見もあります。

問題点① ミクロンサイズの微細藻類細胞の回収が困難
問題点② 藻類を培養するための広大な土地と高価な培養設備が必要
問題点③ 野外環境での異種微生物のコンタミネーションによる培養系の破壊
問題点④ 通常の培地中での低い脂質蓄積効率

そこで私達は、ハイドロゲルを用いた新しい野外大規模培養法を提案し、開発を行っております。ハイドロゲルを用いた微細藻類培養法の戦略を図 1 に示します。

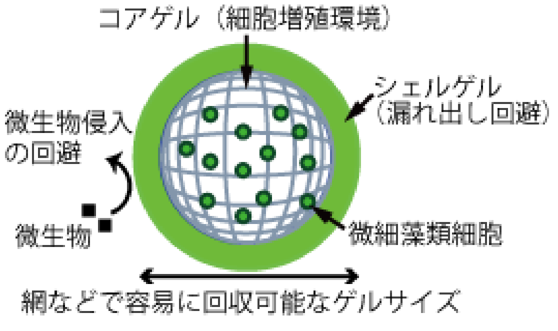

図 1.微細藻類のゲル封入培養法

1. ゲル封入による回収効率の向上

従来の大規模培養では、約十マイクロメートルサイズの微細藻類を大きなプールの中から回収するために凝集剤で濃縮した後、遠心を行って回収している。しかしながら、手間とコストがかかる。数 mm～数 cm サイズのハイドロゲル内に微細藻類を封入することによって、網などで回収が可能になる（問題点①の解決）。

2. ゲルからの微細藻類の漏れ出し抑制

ゲル内に微細藻類を封入することで、湖、海洋などの地域で養殖することが可能になる（問題点②の解決）。これによりオープンポンドを設置するための土地や設備も必要なく、また培地のコストもかからなくなるかもしれない。しかしながら、ゲルからの漏れ出しにより、微細藻類が自然環境に漏出してしまっては、環境の悪化につながる懸念もあるが、ゲルをコアーシェル型などの形状にするなど工学的アプローチにより、細胞漏出の問題を回避することができる。

3. コンタミネーションによる培養失敗のリスクを回避（問題点③の解決）

野外培養では、成長速度が遅い微細藻類は、他の微生物との生存競争に負けてしまう。ゲル中に封入することにより、ゲルネットワーク内に微生物が侵入できないため安定した増殖が可能になる。

4. ゲル封入による脂質の蓄積効率の向上（問題点④の解決）

生物は、外部の環境によって、機能や細胞内代謝経路を変え、環境に適応しようとする。実際に、微細藻類はストレスを感じるとバイオディーゼルの原料となる脂質を細胞内に蓄積する性質があることが報告されている。この性質を利用し、ハイドロゲルの材料や構造を最適化することによって、脂質蓄積効率が向上させる可能性を有する。

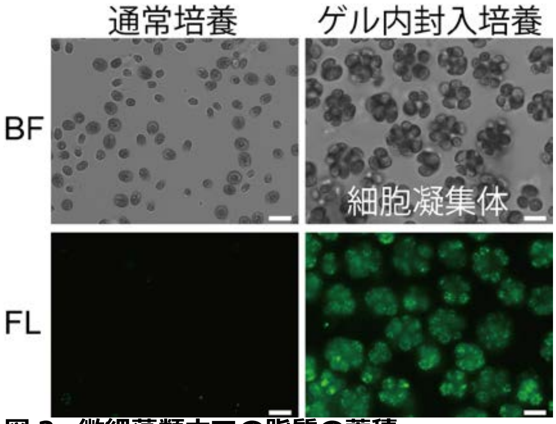

図 2. 微細藻類内での脂質の蓄積
明視野画像(BF)と蛍光画像(FL)。BODIPY を用いて細胞内の脂質を染色した（FL 図中の灰色）。スケールバー:20μm。**培養 4 日後、EDTA を用いてゲルを溶解すると、約３０個程度の細胞からなる凝集体が得られる（右上図）。この凝集体は、細胞内にバイオディーゼルの原料となる油を大量に蓄積している（右下図）。**

2. 研究成果及び考察

藻類バイオ燃料を行う際に大きな問題は、微細藻類が通常の培地中では脂質を溜めないということである（問題点④）。小スケールでは、培地から窒素成分を除去するなどして栄養飢餓状態を作り出し、ストレスを与えることで、微細藻類に脂質を蓄積させる。しかしながら、大量培養や自然環境での養殖の場合、培地成分を変えることは不可能である。そこで、本研究では、*Chlamydomonas debaryana* (*C. debaryana*) という特殊な微細藻類に着目した。この種は、窒素などの栄養飢餓状態でなくとも、細胞増殖が定常期に入ると、徐々に細胞内に脂質を蓄積することが報告されている（Toyoshima et al., Plant Cell Physiol. 2015, 56(12):2447-56.）。しかしながら、その脂質蓄積速度が遅いといった課題を有していた。そこで、この *C. debaryana* をアルギン酸ハイドロゲルビーズ内に封入したところ、ビーズが徐々にクロロフィル由来の緑色になり、増殖が確認された。

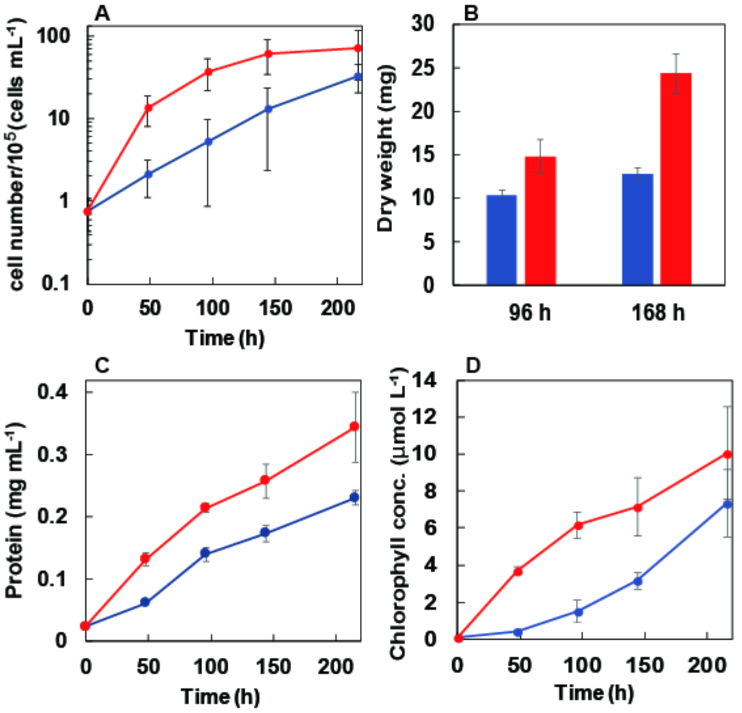

図 3. ゲル封入培養による細胞増殖の促進
（赤）ゲル封入培養法、(青)通常培養法　(A)細胞数、(B)乾燥重量、(C)たんぱく質量、(D)クロロフィル量

通常、ゲルに封入されていないと微細藻類は、鞭毛を動かしながら遊泳している（図 2 左上）。一方、ゲルに封入された藻類細胞は、球状の細胞凝集体を形成していた（図 2 右上）。これは、ゲルネットワーク内で微細藻類が遊泳できないため、その場にとどまりながら細胞分裂をした結果、細胞凝集体を形成したと考えられる。またアルギン酸ゲルビーズをカルシウムキレート剤で崩壊させても凝集体は壊れず、細胞凝集体を回収することができる。また BODIPY を用いて細胞内の脂質染色したところ、ゲル封入により脂質の蓄積速度が促進するという大変興味深い結果を得た（図 2 右下）。ゲル封入培養法により脂質の蓄積速度が高まった理由を調べるために、細胞増殖を測定した。図 3 に示すように、細胞数、乾燥重量、たんぱく質量、クロロフィル量の測定結果は、ゲル封入培養が細胞増殖を促進させたことを示す。ゲル封入培養において、96 時間後には定常期に入っていた。このことから、ゲル封入培養は、細胞増殖の促進することで脂質蓄積を促進させることが明らかとなった。細胞増殖と脂質蓄積を考慮すると、ゲル封入培養法は、通常培養法に比べて約 5 倍バイオ燃料生産効率を高められることがわかった。これらの結果から、*C. debaryana* のゲル封入培養法は、新しいバイオ燃料生産法として期待することができる。

３．将来展望

最近､環境汚染の懸念から､プラスチックの使用が制限され始めている｡また COP21 をはじめとして、長年懸念されてきた環境問題にいよいよ世界が危機感を持ち、世界で様々な取り組みがなされている。人類は、産業革命以後、化石燃料をベースに産業を発展させてきたが、我々は、化石燃料を持続可能なエネルギーであるバイオマスに代替することができるであろうか。そのためにも微細藻類を大規模に培養可能なシステムの構築が必要となる。またバイオマスの大規模培養は、燃料電池車の水素供給にも役立つ可能性が高い。将来、電気自動車と並行して燃料電池車が主流になっていく可能性があるが、その水素の供給に大きな課題がある。それは、化石燃料を用いて、水素を製造している点である。これでは、化石燃料を使用していると同じであり、代替法が必要となってくる。そこで、微細藻類のゲル封入培養法の大規模培養が成功した際には、これらの水素製造にも貢献できる可能性を有している。

４．研究発表

学会での発表

1. Toru YOSHITOMI and Keitaro YOSHIMOTO, Hydrogel encapsulation forms spherical microalgae aggregates with acceleration of cell growth and lipid accumulation, 第66回高分子学会年次大会/千葉、2017年5月

2. 神永紗英子、吉冨徹、豊島正和、佐藤直樹、真崎康博、吉本敬太郎、藻類細胞の増殖および脂質蓄積におけるアルギン酸ゲル封入培養法の効果、第 66 回高分子学会年次大会/千葉、2017 年 5 月

3. 佐藤遥、吉冨徹、由井宏治、吉本敬太郎、PEG ハイドロゲルに封入された藻類細胞の増殖及び脂質蓄積に及ぼすマクロマー分子量の効果、第66回高分子学会年次大会/千葉、2017年5月

4. 島田尚弥、吉冨徹、飯島一智、橋詰峰雄、吉本敬太郎、ポリエチレンイミン添加による微細藻類の凝集化と脂質蓄積及びアスタキサンチン生産能の向上、第66回高分子学会年次大会/千葉、2017年5月

5.吉冨徹、島田尚弥、飯島一智、橋詰峰雄、吉本敬太郎、ポリエチレンイミンによる微細藻類中の酸化ストレスの増大とアスタキサンチン生産能の向上、第 70 回日本酸化ストレス学会/茨城、2017 年 6 月

6. 吉冨徹、島田尚弥、飯 一智、橋詰峰雄、吉本敬太郎、ポリアミン添加による微細藻類中の酸化ストレスの増大とアスタキサンチン生産能の向上、第 81 回日本植物学会/千葉、2017 年 9 月

7. 吉冨徹、神永紗英子、豊島正和、佐藤直樹、真崎康博、吉本敬太郎、高分子ゲル封入培養法による微細藻類の細胞凝集体形成と増殖・脂質蓄積速度の促進、第 69 回日本生物工学会/東京、2017 年 9 月

8. 吉冨徹、神永紗英子、吉本敬太郎、ゲル封入培養法による微細藻類細胞凝集体の作製と高効率なバイオ燃料生産への展開、第 27 回インテリジェント材料・システムシンポジウム/東京、2018 年 1 月

9. Toru YOSHITOMI, Saeko KAMINAGA, Keitaro YOSHIMOTO, Spherical aggregation of microalgae with acceleration of cell growth and lipid accumulation by encapsulation in hydrogels, 255th_ACS National Meeting, ニューオリンズ, USA, 2018 年 3 月