

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00642

研究課題名(和文) フロート型バイオリアクターによる藍藻と光合成細菌による水素生産

研究課題名(英文) Hydrogen production by cyanobacteria and photosynthetic bacteria by float type bioreactor

研究代表者

井上 和仁 (Inoue, Kazuhito)

神奈川大学・理学部・教授

研究者番号：20221088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：太陽光による光生物学的水素生産を実施する場所として農業と競合しない海洋面の利用が考えられる。本研究は、シアノバクテリアと紅色光合成細菌を利用して光生物学的に水素を海面上で生産することを最終目標として、そのシステム開発の基盤となる技術開発を行うことを目的とした。水素低透過性プラスチックを用いてバッグを作成し、内部にシアノバクテリアや紅色光合成細菌を入れて水素が蓄積することを実証した。また、シアノバクテリアのヘテロシスト形成頻度改変株、紅色光合成細菌の取り込み型ヒドロゲナーゼ Hup の破壊株など水素生産性が向上した改良株を作成した。

研究成果の概要(英文)：As a place to carry out photobiological hydrogen production by sunlight, use of the ocean surface is considered as a place not competing with agriculture. The purpose of this research was to develop technologies for photobiological hydrogen production using cyanobacteria and purple photosynthetic bacteria on the surface of ocean. A bag made with low hydrogen permeable plastic and demonstrated that hydrogen accumulated by placing cyanobacteria or purple photosynthetic bacteria inside. By genetic engineering, heterocyst formation-modified cyanobacteria and hydrogen up take hydrogenase Hup disrupted purple photosynthetic bacteria were constructed. They showed improved hydrogen productivity.

研究分野：植物生理学

キーワード：水素生産 光合成 シアノバクテリア 光合成細菌 海洋

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

報告者らは糸状性シアノバクテリア *Nostoc* を遺伝子工学的に改良した株を用いて 60 日以上にわたる持続的な水素生産を実現させ、実験室レベルでは光エネルギー変換効率 1.7% を達成していた。この実験系では、ガラスバイアル (容量 20 mL) にシアノバクテリアの培養液を 5 mL 程度入れ、内部を水素と酸素を含まない人工空気で満たしてプチル栓で密閉し、蛍光灯照射下に置くことで、数日後にはバイアル内部の気相に 15-20% (v/v) 程度の水素が蓄積する。栓を通して注射針を 2 本さし、一方の針から水素を含む気体を吸引して回収し、もう一方から水素を含まない人工空気を送り込むだけの極めてシンプルなシステムである。しかも、培養液を更新する必要は全くない。化学工業的に窒素肥料を合成する場合、極めて多量のエネルギーを消費するが、報告者らのシステムでは窒素固定能を持つシアノバクテリアを用いているので、窒素肥料を新たに追加することなく水素を収穫し続けることができる。この特徴は極めてユニークであった。

2. 研究の目的

太陽光による光生物学的水素生産を実施する場所として農業と競合しない海洋面の利用が考えられる。本研究は、シアノバクテリアと紅色光合成細菌を利用して光生物学的に水素を海面上で生産することを最終目標として、そのシステム開発の基盤となる技術開発を行うことを目的とした。安価な水素低透過性プラスチック素材を用いることでフロート型のバイオリアクターを試作し、ガラスバイアルで実現できている実験系の規模を拡大を目指した。

3. 研究の方法

(1) フロート型バイオリアクターの試作。水素透過性が低い PET 樹脂フィルムをベースとしてアクリル酸樹脂系高分子や酸化アルミニウムをコートした水素バリアー性のラミネート膜を材料にバイオリアクターを開発し、その耐久性、経済性を試験し、実際にシアノバクテリアや紅色光合成細菌を内部で培養し、水素生産を実証する。

(2) シアノバクテリアおよび紅色光合成細菌の遺伝子工学的改良による水素生産性の向上。ニトロゲナーゼ、光合成系、細胞形状などに関連する遺伝子をターゲットに遺伝子工学的的手法により水素生産性の高い株を作出する。

(3) 紅色光合成細菌とシアノバクテリアの複層型バイオリアクターの試作。クロロフィル *a* を持ち可視光を利用するシアノバクテリアとバクテリオクロロフィル *a/b* を持ち近赤外光を利用する紅色光合成細菌の培養

層を重ねることで水素生産に利用できる光の波長領域を大きく拡大されるかデータを得る。

4. 研究成果

水素低透過性プラスチックを用いてバッグ (19 cm x 18 cm) を作成し、内部にシアノバクテリアや紅色光合成細菌を入れて蓄積する水素量を計測した。このバッグを海水と同じ比重の液体を入れた水槽に浮かべ、太陽光模擬照射装置の下で水素を蓄積することを実証した。ガラスバイアルと比べて規模を大きくでき、水素や酸素など内部に蓄積するガスの圧力増加に対応できるなど経済性以外にも利点があることが明らかとなった。

シアノバクテリアのヘテロシスト形成頻度を変えた株を遺伝子改変により作成し、強光で水素生産性が高まることを見出した。紅色光合成細菌の取り込み型ヒドロゲナーゼ Hup の破壊株を作成し、水素生産量が増大することを確認した。好熱性の光合成細菌のアンテナ色素複合体 LH1 の熱安定性に関与するカルシウムイオンの機能を明らかにした。バイオリアクター内部の温度が高温でも安定した水素生産を可能にする改良株の開発のための重要な知見を得た。

シアノバクテリアと紅色光合成細菌を入れた二つのカルチャーフラスコを二層に重ね、真上から 60W ハロゲンランプにより約 200 Wm⁻² の強度で光照射した。カルチャーフラスコの外側はアルミテープで覆い、上層の菌体液を透過する光のみが下層に行くようにした。単位面積当たりの水素生産量としては、シアノバクテリアの培養層を二つ重ねた時と比べ、下層を紅色光合成細菌の培養層に変えることで 2.7 倍近く増大した。

<引用文献>

M. Kitashima, M. Masukawa, H. Sakurai, K. Inoue (2012)
Flexible Plastic Bioreactors for Photobiological Hydrogen Production by Hydrogenase-Deficient Cyanobacteria, Biosci. Biotech. Biochem., 2012, 76, 831-833.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 6 件)

K. V. P. Nagashima, K. Inoue ら他 16 名, 1, 15 番目 (2017)
Probing structure-function relationships in early events in photosynthesis using a chimeric photocomplex,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,
114:10906-10911.
doi: 10.1073/pnas.1703584114

T. Sato, K. Inoue, H. Sakurai, K.V.P. Nagashima (2017)
Effects of the deletion of *hup* genes encoding the uptake hydrogenase on the activity of hydrogen production in the purple photosynthetic bacterium *Rubrivivax gelatinosus* IL144.
J. Gen. Appl. Microbiol., 63:274-279
doi: 10.2323/jgam.2017.01.003.

T. Laurinavichene, M. Kitashima, K.V.P. Nagashima, S. Takeshi, H. Sakurai, K. Inoue, A. Tsygankov (2017)
Effect of growth conditions on advantages of *hup* strain for H₂ photoproduction by *Rubrivivax gelatinosus*.
Int. J. Hydro. Energy, 42:8497-8504
doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.074

H. Masukawa, H. Sakurai, R. P. Hausinger, K. Inoue (2017) Increased heterocyst frequency by *patN* disruption in *Anabaena* leads to enhanced photobiological hydrogen production at high light intensity and high cell density.
Appl. Microbiol. Biotechnol. 101:2177-2188.
doi: 10.1007/s00253-016-8078-3.

〔学会発表〕(計20件)

佐藤剛、末木幸太郎、後藤和貴、永島賢治、櫻井英博、井上和仁、取り込み型ヒドロゲナーゼを欠損した紅色細菌による異なる培地条件下での水素生産及びヘテロシスト形成型シアノバクテリアと組み合わせた水素生産、第59回日本植物生理学会年會年札幌(2018)

K. Inoue, M. Kitashima, K.V. P. Nagashima, H. Sakurai, T. Sato, Improved Light Energy Efficiency of Photobiological Hydrogen Production in Stacked Bioreactors using Cyanobacteria and Purple Bacteria, International 2017 Conference on Artificial Photosynthesis, Kyoto, Japan (2017)

櫻井英博、北島正治、白木麻里、増川一、佐藤剛、永島咲子、永島賢治、Evgeny Shastik, Tatyana Laurinavichene, Anastasiya Gavrishcheva, Ekaterina Petushkova, Anatoly Tsygankov, 井上和仁、シアノバクテリアおよび紅色細菌のニトロゲナーゼに基づく光生物学的水素生産の諸

特性と持続性と光及び培養条件の検討、第36回水素エネルギー協会大会、東京(2016)

H. Sakurai, H. Masukawa, M. Kitashima, K. Inoue, Our Efforts Toward Achieving Commercially Viable Large-scale Photobiological Hydrogen Production by Cyanobacteria, 15th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes, Tübingen, Germany (2015)

T. Sato, H. Masukawa, M. Kitashima, H. Sakurai, K. Inoue, Inactivation on Mo-type Nitrogenase and Selective Expression on V-type Nitrogenase Activity of the Heterocystous Cyanobacteria, 15th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes, Tübingen, Germany (2015)

〔図書〕(計4件)

井上和仁、ヘテロシスト形成型シアノバクテリアを利用した光生物学的水素生産法、光触媒/光半導体を利用した人工光合成-最先端科学から実装技術への発展を目指して-堂免一成、瀬戸山亨 監修 第2編 第2章 pp.84-91、NTS出版(2017)

増川一、北島正治、櫻井英博、井上和仁「ヘテロシスト形成型シアノバクテリアのニトロゲナーゼを利用した光生物学的水素生産」バイオインダストリー 33(1), 36-42(2016)

井上和仁、人工光合成への道筋(1)-生物学からのアプローチ、夢の新エネルギー「人工光合成」とは何か、光生物学協会編 井上晴夫監修 第4章 pp103-120、講談社ブルーバックス(2016)

北島正治、櫻井英博、井上和仁、増川一、シアノバクテリアからの高効率水素生産、再生可能エネルギーによる水素製造、第4節 pp.143-151 S&T出版(2016)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://bio-hydrogen.kanagawa-u.ac.jp>

http://www.kanagawa-u.ac.jp/pressrelease/details_14727.html

http://www.kanagawa-u.ac.jp/pressrelease/details_15663.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 和仁 (INOUE, Kazuhito)
神奈川大学・理学部・教授
研究者番号：20221088

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

永島 賢治 (NAGASHIMA, Kenji)
神奈川大学・光合成水素生産研究所・
プロジェクト研究員
研究者番号：80264589

(4) 研究協力者

櫻井 英博 (SAKURAI, Hidehiro)

北島 正治 (KITASHIMA, Masaharu)

佐藤 剛 (SATO, Takeshi)