

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12243

研究課題名(和文) 微細藻類の光合成・バイオマス合成を支配する細菌の分子基盤解明とその応用

研究課題名(英文) Mechanisms for enhanced biomass production of microalgae by microalgae growth-promoting bacteria (MGPB) and its application

研究代表者

遠山 忠 (TOYAMA, Tadashi)

山梨大学・総合研究部・准教授

研究者番号：60431392

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：Chlorella vulgarisやEuglena gracilisなど微細藻類成長促進細菌(Microalgae Growth-Promoting Bacteria: MGPB)の探索を試みた。MGPB候補菌株を200株以上分離し、その中から微細藻類の成長を3倍以上促進するMGPBを見いだした。MGPBの一部は、微細藻類のクロロフィル合成と光合成を2倍以上促進し、その促進にはMGPBが生産する窒素化合物が関与していることが示唆された。さらに、下水二次処理水を用いた微細藻類栽培リアクターにMGPBを接種することにより、微細藻類バイオマスと微細藻類オイルの生産性を2倍高めることに成功した。

研究成果の概要(英文)：Microalgae Growth-Promoting Bacteria (MGPB) were isolated from some microalgae including Chlorella vulgaris and Euglena gracilis. Some strains of isolated MGPB increased microalgae growth rate more than 3 times. Some MGPB strains also increased chlorophyll synthesis rate and photosynthesis rate of microalgae more than 2 times. Nitrogen-containing compound produced by MGPB might be involved in these microalgae growth promotion. We demonstrated that the use of MGPB in microalgae culture reactor can improve the efficiency of microalgae biomass and oil productions.

研究分野：環境工学

キーワード：グリーンプロダクション 微細藻類バイオマス 光合成 バイオマス合成

1. 研究開始当初の背景

石油依存から脱却した持続可能な循環型社会を実現するため、第三世代バイオマスの微細藻類を起点としたエネルギー・化学製品生産（バイオリファイナリー）の構築が期待されている。油脂や糖質を高濃度で蓄積する微細藻類の探索、微細藻類培養条件の制御や遺伝子組み換え技術による微細藻類の生産能力の強化などが精力的に進められているが、効率的な微細藻類バイオリファイナリーの実現のためには課題が多く、プロセス全体の低コスト化と省エネルギー化が必要である。その成功の鍵の一つが、目的の微細藻類バイオマスの大量、安定、効率的な生産である。代表者はそのブレークスルーとして微細藻類成長を促進する細菌（Microalgae Growth-Promoting Bacteria: MGPB）に着目した。これまでの先行研究において MGPB の存在は知られているが、その環境中での分布や特徴、微細藻類バイオマス生産システムへの応用可能性は不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、微細藻類の光合成とバイオマス生産を劇的に促進する MGPB の基礎と利用技術を開拓し、エネルギー生産性を徹底的に高めた微細藻類バイオマス生産システムの開発を目的とした。具体的には、以下の3つの研究課題に取り組んだ。

- (1) MGPB の探索とその特徴づけ
- (2) MGPB による微細藻類光合成・バイオマス合成促進の定量評価と分子基盤解明
- (3) MGPB 利用型微細藻類培養によるバイオマス生産の実証実験

3. 研究の方法

(1) MGPB の探索とその特徴づけ

Auxenochlorella protothecoides, *Botryococcus braunii*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella variabilis*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum* sp., *Euglena gracilis*, *Oogamochlamys* sp., *Scenedesmus obliquus* の10種を供試微細藻類とした。これらを下水二次処理水や畜産排水で培養し、微細藻類に共生する細菌を MGPB 候補菌株として分離した。その分離菌株の系統分類学的特徴と基本的な生理・生化学的な特徴を調べた。

(2) MGPB による微細藻類光合成・バイオマス合成促進の定量評価と分子基盤解明

MGPB とその分離源微細藻類を液体培地で共培養し、バイオマス合成速度と光合成速度を微細藻類無菌培養と比較することで MGPB による微細藻類成長促進効果を定量評価した。

(3) MGPB 利用型微細藻類培養によるバイオマス生産の実証実験

E. gracilis を用いて微細藻類バイオマス生産リアクターを試作した。リアクターの容量

は 2L で実下水二次処理水を栽培水として人工気象室（気温：28℃、光強度：80μmol/m²/s、明暗サイクル：16 時間-明/8 時間-暗、空気曝気）で *E. gracilis* を培養した。MGPB を接種したリアクターと接種していないリアクターの *E. gracilis* バイオマス生産と *E. gracilis* オイル生産を比較した。

4. 研究成果

(1) MGPB の探索とその特徴づけ

生きた細菌群が存在する下水二次処理水や畜産排水を用いて 10 種類の微細藻類を培養したところ、オートクレーブ滅菌した下水二次処理水、畜産排水を用いた培養に比べて微細藻類の成長が明らかに促進した（図 1）。また、それらの微細藻類表面に付着する共生細菌も SEM 観察によって確認された（図 2）。この結果から、排水中の細菌群が微細藻類と共生し、微細藻類の成長を促進していることが強く示唆された。

その微細藻類培養液から、培養法を用いて MGPB 候補菌株を 200 株以上分離することができた。それらの中では *Sphingopyxis* 属細菌、*Sediminibacterium* 属細菌、*Sphingomonas* 属細菌、*Hydrogenophaga* 属細菌、*Bosea* 属細菌、*Rhizobium* 属細菌、*Herbaspirillum* 属細菌と *Caulobacter* 属細菌と近縁なものが多く存在した。

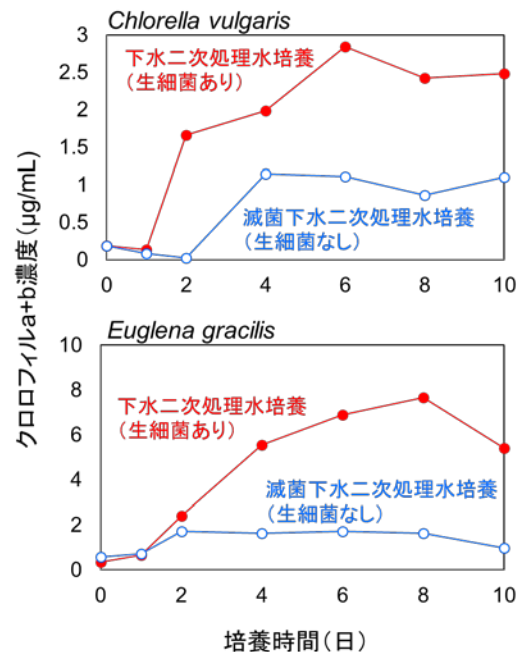


図 1 下水二次処理水（生細菌あり）と滅菌下水二次処理水（生細菌なし）を用いた *Chlorella vulgaris* と *Euglena gracilis* 培養液中のクロロフィル a+b 濃度の変化

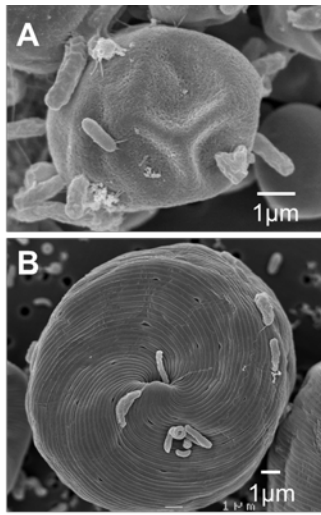


図2 *Chlorella vulgaris* (A) と *Euglena gracilis* (B) の表面に付着する細菌

(2) MGPB による微細藻類光合成・バイオマス合成促進の定量評価と分子基盤解明

分離した約200株のMGPBをそれぞれその分離源微細藻類と共培養した結果、無菌微細藻類培養と比較して、微細藻類の成長、バイオマス生産とクロロフィル合成が促進された。分離したMGPBのうち、21株が微細藻類の成長を3倍以上促進した。MGPBの微細藻類成長促進効果の一例を図3に示した。

増殖促進が認められた微細藻類の細胞内の窒素含有量が有意に増加していたことから、MGPBが生産する窒素含有物質が微細藻類成長促進に関与していたことが示唆された。

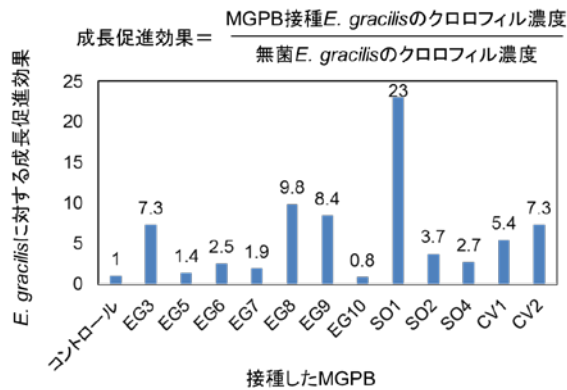


図3 *E. gracilis* に対する MGPB の成長促進効果

(3) MGPB 利用型微細藻類培養によるバイオマス生産の実証実験

実際の下水二次処理水を栽培水として微細藻類培養するリアクターでMGPBを接種した*E. gracilis*とMGPBを接種していない*E. gracilis*を培養した(図4)。2種類の*E. gracilis*バイオマス生産リアクター内のバイオマス量の時間変化を図5に、3日間のバイオマス生産量とオイル生産量を図6にまとめた。MGPBを接種することにより*E. gracilis*の成

長が促進され、*E. gracilis*のバイオマス生産量とオイル生産量が約2倍増加することが実証された。このことから、MGPB利用技術は実用的な微細藻類培養においても、バイオマス生産とオイル生産を促進する有力な手法であることが裏付けられた。



図4 下水二次処理水を栽培水とした *Euglena gracilis* 培養するリアクター

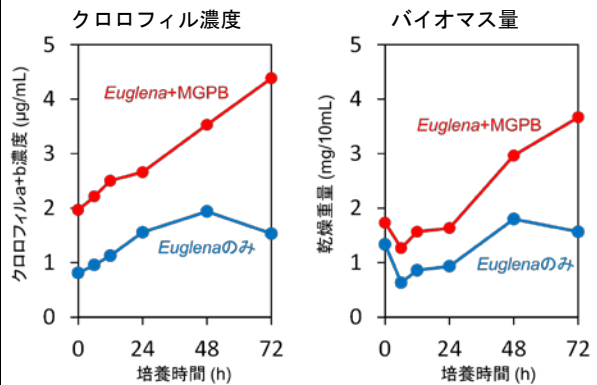


図5 培養リアクター内での *Euglena gracilis* クロロフィル濃度とバイオマス量の変化

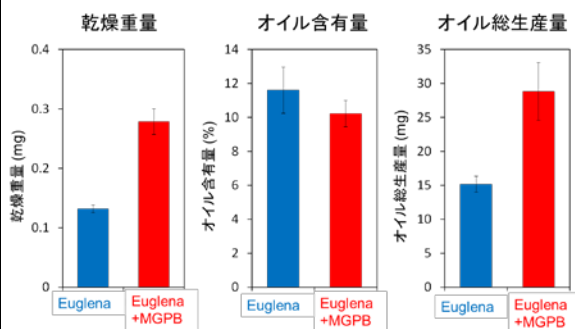


図6 培養リアクター3日間の *Euglena gracilis* バイオマス生産量とオイル生産量

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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 遠山忠、小林直人、森一博、微細藻類の光合成とバイオマス合成を促進する細菌の分離とその応用、第 50 回日本水環境学会年会、2016.3.16-18、アスティとくしま、徳島市
- ② Tadashi Toyama, Naoto Kobayashi, Tsubasa Hanaoka, Yasuhiro Tanaka, Kazuhiro Mori, Enhanced biomass production of *Euglena gracilis* by microalgae growth-promoting bacteria, Water and Environment Technology Conference 2016, 2016.8.27-28, Chuo University, Tokyo
- ③ 花岡翼、中島秀鷹、糟谷まり、遠山忠、排水を用いた *Euglena gracilis* バイオマス生産と微細藻類成長促進細菌によるその効率化、第 51 回日本水環境学会年会、2017.3.15-17、熊本大学、熊本市
- ④ 糟谷まり、井上大介、清和成、中島秀鷹、花岡翼、遠山忠、森一博、排水中の細菌群が微細藻類の増殖に及ぼす影響の評価、第 51 回日本水環境学会年会、2017.3.15-17、熊本大学、熊本市

[その他]

ホームページ等

<http://www.ccn.yamanashi.ac.jp/~5lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠山 忠 (TOYAMA Tadashi)

山梨大学・大学院総合研究部・准教授

研究者番号：60431392