

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 9 月 7 日現在

機関番号：34406

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660179

研究課題名(和文) オイル産生藻類の交配育種に向けた有性生殖機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of sexual reproduction in oil-producing algae for cross breeding

研究代表者

河村 耕史 (Kawamura, Koji)

大阪工業大学・工学部・准教授

研究者番号：00595613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：光合成能力を持った微生物である微細藻類のなかには、脂質や炭化水素などのオイルを作るものがあります。そのような微細藻類(オイル産生藻類)が作る油は「緑の原油」と呼ばれ、再生可能でカーボンニュートラルな次世代燃料となる可能性があります。しかしながら、現在知られているオイル産生藻類は、増殖が遅いなどの問題があり、実用化に必要な屋外大量培養に至っていません。実用化に向けて、農作物などで行われているような品種改良を進める必要があると考え、本研究では、オイル産生藻類の交配育種の実現に必要な有性生殖機構の解明と、有用な形質をもった野生の遺伝資源の探索に関する研究を実施しました。

研究成果の概要(英文)：Oil-producing microalgae produce oil such as lipid and hydrocarbon by utilizing solar energy and carbon dioxide (photosynthesis). Microalgal oil can become renewable and carbon-neutral next-generation energy. However, known oil-producing microalgae are not enough efficient to produce oil for mass production. Breeding method should be developed in microalgae for improving the productivity. We therefore aim to uncover the mechanisms of sexual reproduction of oil-producing microalgae for cross breeding and to search novel genetic resources in wild species and strains for materials of breeding. By genomic screening and gene expression analysis, we found an evidence of capability for sexual reproduction in an oil-producing microalga, *Botryococcus braunii*. We have also developed a PCR (polymerase chain reaction) based technique for detection and quantification of wild *B. braunii* strains from tropics to temperate regions.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：交配育種 有性生殖 微細藻類 バイオ燃料 リアルタイムPCR 減数分裂 炭化水素産生藻 遺伝資源

## 1. 研究開始当初の背景

現在、我が国はエネルギー・セキュリティ確保や地球温暖化対策といった大きな課題に直面しており、再生可能エネルギーである「微細藻類が作るバイオ燃料」への期待が高まっています。微細藻類は、アブラヤシなどの陸上の燃料作物に比べて、面積あたりの生産性が格段に高いこと、食糧との競合が起りにくいこと、排水処理などの多面的な利用が可能であること、などの利点を持つためです。バイオ燃料化が期待される微細藻類の中で、ボトリオコッカス (*Botryococcus braunii*) は、際立った特徴を持っています。本種は、重油相当の炭化水素を最大で乾重量の 60-70% も作る特質があり、「石油を作る微細藻類」と呼ばれています。

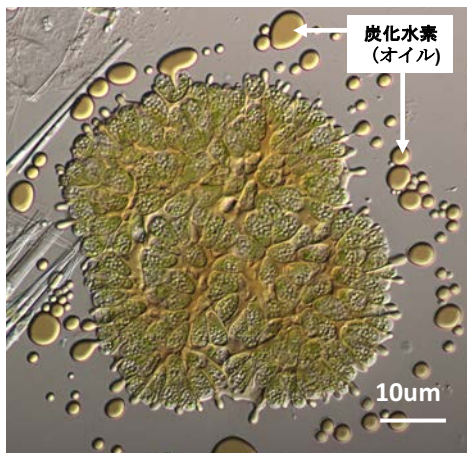


図1. 石油を作る微細藻類ボトリオコッカス  
淡水に生息する緑藻。カバーガラスで押しつぶした様子。

日本の研究者は、ボトリオコッカスの燃料化に向けた研究で世界をリードしています。筑波大学の渡邊信教授らは、オイル蓄積量の高い株や、薬剤耐性を持つ株など、様々な有用形質を持つ株を単離し、200m<sup>2</sup>スケールの屋外大量培養試験を始めています。さらに、神戸大学の榎本平教授は選択的培養育種という方法を使って、増殖速度が数倍に増加した株の育種に成功しています。次のステップとして、複数の有用形質を合わせもった超優良株を得ることが、実用化のために求められています。しかしながら、ボトリオコッカスは、遺伝子組換え技術も交配の方法論も確立されていないため、このような超優良株の作出は大変困難な状況でした。

## 2. 研究の目的

本研究は以下のような具体的目的を立てて研究を行いました：

- (1) ボトリオコッカスの有性生殖機構の解明  
藻類バイオ燃料に関する国内外の論文や研究プロジェクトの中で、本研究が掲げる「交配育種を目的とした有性生殖機構の解明」に取り組んだ事例は、研究代表者の知る限り、これまで報告がありませんでした。特に、ボ

トリオコッカスについては、配偶子、接合子などの有性生殖に関わる知見は一切報告されていない現状でした。

ボトリオコッカスの有性生殖を誘導する方法論の開発に成功したならば、微細藻類のように世代時間の短い生物ならば、交配育種によって急激な品種改良が実現する可能性があります。また、交配育種によって作成した株は、遺伝子組換えで作られた生物に比べ、取り扱い等に関する法規制がないため、ただちに実用できる点も大きな利点といえます。

## (2) 有用なボトリオコッカス野生株の探索

交配育種が実現した場合、増殖速度が速いなど有用な形質をもった遺伝資源が豊富なほど、品種改良の可能性が広がります。また、分子遺伝学的手法による有用形質を制御する遺伝的機構の解明にも役立ちます。しかしながら、国内ではボトリオコッカス野生株の収集と性能評価をした事例はありますが、海外、特に熱帯域ではほとんど報告がありませんでした。そこで、特に、熱帯産のボトリオコッカス野生株の収集と性能評価を目的に研究をすることにしました。

## 3. 研究の方法

### (1) ボトリオコッカスの有性生殖機構の解明

ボトリオコッカスが生物として有性生殖をする能力を保持しているかを遺伝子情報を使って調べる方法をとりました。有性生殖とは、遺伝的に異なる個体由来する配偶子がペアとなって受精し、接合子を形成、染色体の組換えと減数分裂を経て、遺伝的に交雑した次世代を作る仕組みで、私たち人間を含む全ての真核生物の祖先の時代から受け継がれている性質とされています。しかしながら、進化の過程で一部の真核生物は、有性生殖をする能力を失って、無性的に細胞分裂をするだけの生活史をもつに至ったものもあります。真核生物であるボトリオコッカスも、もともとは有性生殖をする能力を持っていたと考えられますが、実験室内で培養している株では、配偶子や接合子などの有性生殖を示唆する形態的な変化は見つかっていません。ボトリオコッカスが生物として有性生殖をする能力を持っているならば、有性生殖のときにのみ起こる特殊な細胞分裂である「減数分裂」を制御する遺伝子を保持していると予測されます。このような遺伝子の配列的特徴は真核生物全般で広く保存されていることが知られていましたので、これを利用し、ボトリオコッカスのゲノム情報と mRNA のデータベース (EST) を対象に、減数分裂関連遺伝子の存在を検証しました。そして、存在が確認された減数分裂関連遺伝子の発現が誘導される培養条件を探索する方法で、有性生殖を誘導するための培養条件を探索しました。

### (2) 有用なボトリオコッカス野生株の探索

インドネシアのパランカラヤ大学の研究者

と共同で熱帯泥炭湿地林の湖沼でボトリオコッカス野生株の探索を行いました。さらに、日本国内でも沖縄、九州、四国、本州（近畿、東北）において、湖沼からボトリオコッカス野生株の探索を行いました。

採取したボトリオコッカス野生株が有用な炭化水素（オイル）を作る品種かどうかを簡便に推定するためのダイレクトPCR法を開発しました。ボトリオコッカスは、産生する炭化水素の化学組成をもとに4品種に分類されており、その中で、バイオ燃料として価値のある炭化水素を多量に作るのはB品種であるとされています。そのため、有用なボトリオコッカス野生株を採取するにあたっては、特にB品種を選ぶことが効率的であると考えました。しかしながら、顕微鏡下での形態的な特徴の観察だけでは、品種を特定することができません。また、化学組成を分析できるほど増やすためには多大な労力と時間がかかってしまいます。そこで、微量な細胞から取得した遺伝子情報をもとに品種を推定する方法を開発しました。

ボトリオコッカスは自然湖沼では非常に低密度でしか存在しないことが多く、新しい遺伝資源の探索や生態調査のためには、自然湖沼のサンプルから、未知のボトリオコッカス野生株の存在を効率的に検出する方法論の開発が必要でした。そこで、ボトリオコッカスだけが有すると考えられる炭化水素の生合成に関わる遺伝子の一つであるSSL-3 (Squalene-Synthase Like 3) 遺伝子に着目し、この遺伝子の存在を分子生物学的手法を用いて検出し定量するためのリアルタイムPCR法を開発しました。

このような方法を使って採取したボトリオコッカス野生株を使い、高温と低温条件下における増殖速度を比較する方法で、有用な遺伝資源の抽出を試みました。温度に着目した理由は、日本のような温帯地域で1年を通じて微細藻類を屋外培養するためには、温度の季節変化に応じて、培養に適した株を選択する方法が有効になると予測したためです。

#### 4. 研究成果

##### (1) ボトリオコッカスの有性生殖機構の解明

減数分裂関連遺伝子の存在を確認しました。調査した遺伝子は減数分裂時の相同染色体の対合などに関わるタンパク質をコードする9種類の遺伝子：*DMC1*, *SPO11*, *HOP1*, *HOP2*, *MND1*, *REC8*, *MER3*, *MSH4*, *MSH5* です。それぞれの遺伝子について、ボトリオコッカスに近縁な緑藻（クラミドモナス *Chlamydomonas*、クロレラ *Chlorella*）や人間の相同遺伝子のアミノ酸配列を遺伝子データベースから入手し、これを参照配列（クエリー）として、ボトリオコッカス *showa* 株のゲノムデータを検索し、配列が類似した遺伝子を探索した結果、全ての遺伝子について、類似配列が存在することを確認しました。

さらに、得られた配列情報をもとにプライ

マーを設計し、ボトリオコッカス *showa* 株のDNAを鋳型としたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）をした結果、全ての遺伝子でバンドが検出されました（図2）。

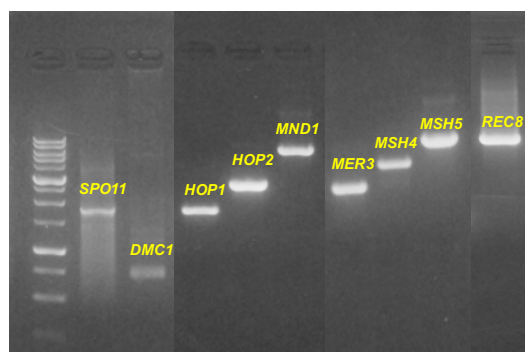


図2. ボトリオコッカス *showa* 株のDNAを鋳型としたPCR産物の電気泳動図。左端のレーンは分子マーカー（1kbp）。各レーンごとに、*showa* 株のゲノムデータから入手した配列情報をもとに設計したプライマーを使ってPCRをした結果、バンドが検出されたため、全ての遺伝子を保有していることが示された（⑦ Ono et al. 2016 より）。

さらに、PCR産物の塩基配列情報を入力し、得られた塩基配列を参照配列（クエリー）として、NCBIの遺伝子データベースに検索をかけたところ、全ての遺伝子について、ボトリオコッカスに近縁な緑藻の減数分裂関連遺伝子がヒットしました。したがって、PCRで増幅した遺伝子は、目的とする遺伝子であり、かつ、ボトリオコッカス *showa* 株のDNA中に存在するものであることが強く示唆されました。

次に、これらの遺伝子が発現しているかどうかを調べました。連携研究者である岡田茂准教授が保有する *showa* 株のmRNAのデータベース（EST）に検索をかけたところ、9つの遺伝子のうち、2つ（*DMC1*, *SPO11*）だけがヒットしました。したがって、ほとんどの遺伝子は通常の培養条件下では発現していないと考えられます。そのため、9つの遺伝子の発現が誘導されるような培養条件を明らかにすれば、有性生殖を引き起こすための培養条件が明らかになることが期待されます。近縁な微細藻類では培養液中の無機態窒素が欠乏すると、有性生殖が誘導されることが知られています。そのため、ボトリオコッカスでも同様の培養条件下に置けば、有性生殖が起こり減数分裂関連遺伝子の発現が確認されるのではないかと考え、現在、確認実験を行っています。

##### (2) 有用なボトリオコッカス野生株の探索

微量（10-100 $\mu$ L）なボトリオコッカス野生株の培養液から、DNA抽出を経ないでダイレクトにPCRを行い、遺伝子の塩基配列を取得するダイレクトPCR法を開発しました（⑤ Nishikawa et al. 2016）。この方法を使い、単離した野生株の18Sリボソーム遺伝子の配列を取得し、既存の株との系統関係を推定する方法で、品種を推定しました。温帯から亜熱帯、熱帯を含む12地点で採取した計40株の品種

を推定した結果、大半の 35 株が有用な炭化水素を作る B 品種であると推定されました (A 品種は 3 株、S もしくは L 品種が 2 株 ; ①西川ら 2017)。熱帯産のボトリオコッカスは調査した 13 株すべてが B 品種であると推定されました。

さらに、高温 (38 度) と低温 (10 度) で増殖能力を比較した結果、株によって温度耐性の遺伝的な変異があることが分かり、低温条件では増殖できないが、高温条件であれば増殖できる株 (5%)、逆に低温条件でのみ増殖できる株 (55%)、いずれの条件でも増殖できない株 (12%)、高温でも低温でも増殖できる株 (28%) に分類されました (①西川ら 2017)。統計解析の結果、このような株の特性は、産地とは無関係であることも示唆されました。このように、温度耐性を持つボトリオコッカス野生株を取得することができました。また、一部の株では、高温条件下で培養すると、細胞間隙に蓄積する炭化水素の量が増えることも蛍光顕微鏡による観察で示唆されました (図 3)。

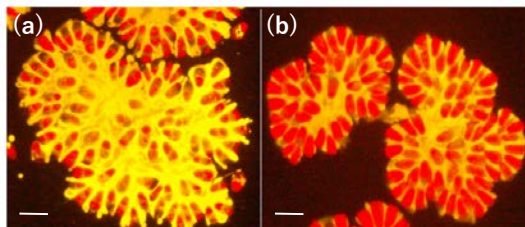


図3. ボトリオコッカス野生株の蛍光顕微鏡画像。ナイルレッドで炭化水素を染色し蛍光観察した様子。黄色は細胞間隙に蓄積した炭化水素を、赤色は細胞内のクロロフィル自家蛍光を示す。(a) 高温で培養した細胞、(b) 低温で培養した細胞。バーは10umを示す。(⑤ Nishikawa et al. 2016より)

ただし、温度耐性がある株でも、通常の培養条件 (25 度) に比べると、高温あるいは低温条件下では増殖速度が顕著に低下していたため、実用化のためにはさらなる品種改良が必要です。

次に、ボトリオコッカス野生株の検出と定量のために開発したリアルタイム PCR 法について説明します。リアルタイム PCR とは反応液中の DNA 量を蛍光測定しながら PCR 反応を行う実験手法で、PCR 産物の増幅曲線から鋳型となった初期 DNA 量を定量することができます。PCR 反応のプライマーを適切に設計することで、サンプル中に特定の塩基配列を持つ DNA がどれだけ含まれているかを定量することができます。この方法を応用し、湖沼からサンプルした水に含まれる未知のボトリオコッカス野生株の存在を検出する方法を開発しました。

ボトリオコッカスの特異的に検出するために、炭化水素の生合成酵素をコードする SSL-3 遺伝子に着目し、2 セットのプライマーを設計しました (F2 x R3, F14 x R12)。ボトリオコッカス showa 株の培養液を段階希釈してから DNA を抽出したものを鋳型にリアルタイム

PCR を行い、検量線を作成しました。その結果、 $10^2$  から  $10^6$  コロニー数の範囲で、いずれのプライマーセットにおいても、誤差の少ない検量線を得ることができました (図 4)。

これらのプライマーセットがボトリオコ

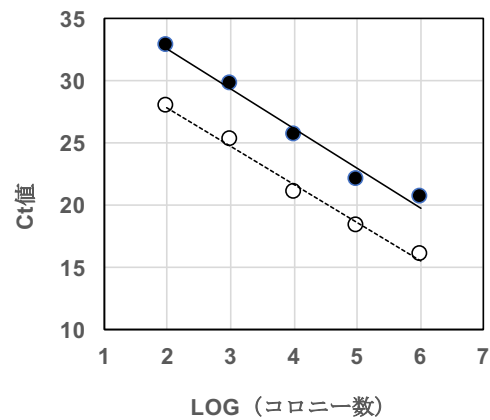


図4. ボトリオコッカスshowa株のコロニー数とCt値の検量線。段階希釈したshowa株の培養液から抽出したDNAを鋳型にリアルタイムPCRを行い、PCR産物の濃度が一定の閾値レベルに達するまでにかかったサイクル数 (Ct値) との関係の散佈図にしたもの。●はプライマーセットF2 x R3, ○はプライマーセットF14 x R12の結果を示す。いずれの場合も、検量線の決定係数は0.98以上と高かった (③原ら 2017より)。

カス野生株の検出に適用できるかどうかを確認するため、各地から単離した野生株の DNA を鋳型に PCR を行い、結果を電気泳動で確認した結果、F2 x R3 では熱帯と亜熱帯産の一部の株では PCR 産物が確認できませんでした (図 5)。一方、F14 x R12 であれば、F2 x R3 で増幅できなかった熱帯産の野生株も増幅できることが分かりました (図 6)。この結果は、F2 x R3 は温帯地域であれば野生株の検出に適用可能であること、熱帯地域での検出には F14 x R12 がより適していることを示唆しています。

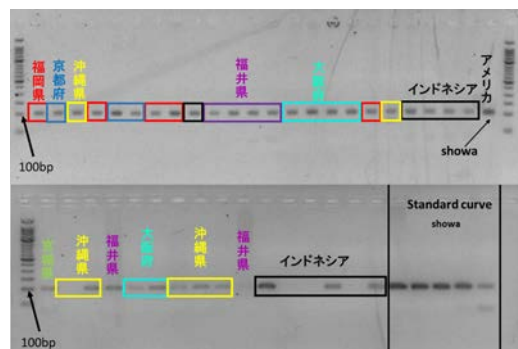


図5. ボトリオコッカス野生株のDNAを鋳型としたPCR反応の結果。SSL3遺伝子上に設計したプライマーセットF2 x R3を使った結果。温帯域で単離した野生株は全てにおいて予測されるサイズにバンドが確認できたが、亜熱帯 (沖縄) と熱帯 (インドネシア) で単離した株では一部でバンドが得られなかった。プライマーを設計した領域に塩基配列の遺伝的な多型があると考えられる (③原ら 2017より)。

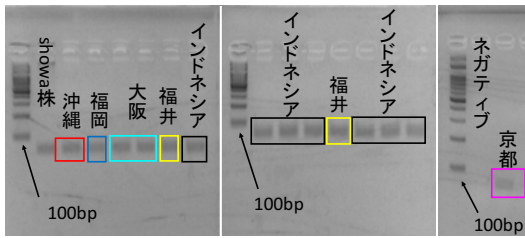


図6. ボトリオコッカス野生株のDNAを鋳型としたPCR反応の結果。SSL3遺伝子上に設計したプライマーセットF14 x R12を使った結果。F2 x R3プライマーでバンドが確認できなかった亜熱帯(沖縄)と熱帯(インドネシア)株でも増幅が見られた(③原ら 2017より)。

次いで、自然湖沼での未知のボトリオコッカス野生株の検出を試みました。自然湖沼のサンプルは、ボトリオコッカス以外の微細藻類や微生物に由来するDNAが含まれるため、非特異的な増幅が懸念されました。そこで、自然湖沼水をろ過して抽出したDNAサンプルを鋳型に上記のプライマーセットによるリアルタイムPCRを行い、融解曲線解析を行いました。融解曲線解析とは、PCR産物の塩基の長さや配列の変異を二本鎖が一本鎖に解離するときの温度の変異によって検出するものです。

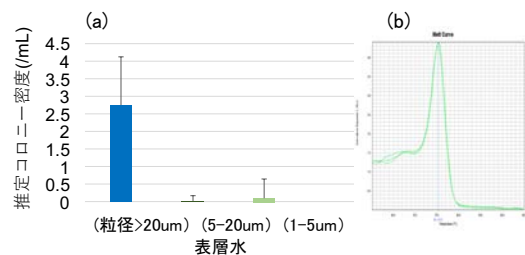


図7. リアルタイムPCRによるボトリオコッカス野生株の検出例。(a)大阪府摂津市のため池から表層水を5L採取し、粒径ごとにフィルターで微生物を捕集したのちにDNAを抽出したものを鋳型に、F2 x R3プライマーでリアルタイムPCRを行い、Ct値からコロニー密度を推定した結果。(b)融解曲線解析のグラフ(③原ら 2017より)。

大阪府摂津市のため池での調査の結果、ボトリオコッカス野生株をF2 x R3プライマーで検出することに成功しました(図7a)。予測されたとおり、粒径が20um以上のコロニー形態をとった状態で自然湖沼でも生息していることが確認されました。逆に、それよりも粒径の小さな状態のボトリオコッカスは、少なくともサンプルを採取した時期の表層水には存在しないことも確認されました。融解曲線解析の結果、PCR産物が1本鎖に解離するときの温度は一つの値に集中したことから、PCR産物の塩基配列には長さや配列の変異はなく、非特異的な増幅は起こっていないことが示唆されました(図7b)。

同様の実験をF14 x R12プライマーを使って熱帯のため池のサンプルを使って行った結果、熱帯産のボトリオコッカス野生株の検出にも適用できることが示唆されました(図8a)。融解曲線解析の結果、非特異的な増幅も起こっていないと考えられました(図8b)。以上の結果から、リアルタイムPCRを用いて自然湖沼の未知のボトリオコッカス野生株の検出と

定量ができることが示唆されました。

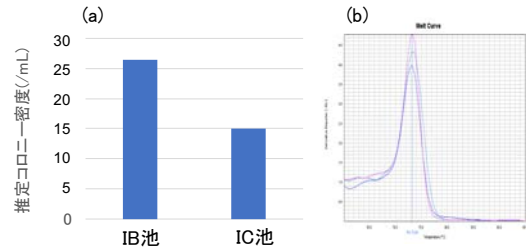


図8. リアルタイムPCRによるボトリオコッカス野生株の検出例。(a)インドネシアのため池(IBとIC)から表層水をプランクトンネットで500mL採取したものを20umフィルターでろ過し、DNAを抽出したものを鋳型に、F14 x R12プライマーでリアルタイムPCRを行い、Ct値からコロニー密度を推定した結果。(b)融解曲線解析のグラフ(③原ら 2017より)。

本研究が開発したリアルタイムPCR法はDNAを検出する方法であるため、図7の例で示したように、形態的に知られていない状態のボトリオコッカスの検出にも適用可能です。そのため、自然湖沼での生育場所や生活史などの生態の解明に役立つ強力なツールとなることが期待されます。ひいては、おそらく自然では起こっているであろうと期待される有性生殖についての手がかりが得られる可能性もあると考えています。

## 5. 主な発表論文等

[学会発表](計12件)

- ① 西川鈴音, 平野昂太郎, Aridianor, Segah H, Sulmin G, 岡田茂, 河村耕史「熱帯産と温帯産の炭化水素産生藻 *Botryococcus braunii* の温度耐性の比較」第41回日本藻類学会(ポスター発表). 2017年3月25日. 高知大学(高知県高知市). 講演番号P76.
- ② 原拓也, 小松原直也, 岡田茂, 河村耕史「炭化水素産生藻 *Botryococcus braunii* の転写活性を有するトランスポゾンの探索」第41回日本藻類学会(ポスター発表). 2017年3月25日. 高知大学(高知県高知市). 講演番号P84.
- ③ 原拓也, 平野昂太郎, Aridianor A, Segah H, Sulmin G, 岡田茂, 河村耕史「リアルタイムPCRを利用したオイル産生藻類 *Botryococcus braunii* 野生株の検出と定量」第51回日本水環境学会(口頭発表). 2017年3月17日. 熊本大学(熊本県熊本市). 講演番号3-H-11-1.
- ④ Hirano K, Hara T, Aridianor A, Segah H, Sulmin G, Kawamura K. "Application of real-time PCR assay for detection and quantification of *Botryococcus braunii* in a wide range of natural environments from tropics to temperate" The 10th Algae Biomass Summit (国際学会ポスター発表). 2016年10月25日. アメリカ合衆国アリゾナ州フェニックス. 講演番号No.137.

- (ポスター発表) . 2015 年 3 月 21 日. 九州大学 (福岡県福岡市) . 講演番号 P75.
- ⑤ Nishikawa S, Shintani H, Adianor A, Segah H, Sulmin G, Takayama N, Komai Y, Okada S, Kawamura K. “Development of Direct PCR method for race identification and performance evaluation of *Botryococcus braunii* wild strains isolated from temperate to tropical environments” The 6th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会ポスター発表) . 2016 年 6 月 27 日. アメリカ合衆国サンディエゴ. 講演番号 P1.23.
- ⑥ Kawamura K, Hara T, Okada S. “Application of real time PCR assay for detection and quantification of hydrocarbon producing microalga *Botryococcus braunii* race B” The 6th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会ポスター発表) . 2016 年 6 月 29 日. アメリカ合衆国サンディエゴ. 講演番号 P3.12.
- ⑦ Ono Y, Kawaharada R, Okada S, Kawamura K. “The existence of 9 meiotic genes in *Botryococcus braunii* and the conditions for their expression” The 6th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会口頭発表) . 2016 年 6 月 29 日. アメリカ合衆国サンディエゴ. 講演番号 O2.35.
- ⑧ Hara T, Okada S, Kawamura K. “Expression analysis of Squalene Synthase like 3 (SSL3) gene in *Botryococcus braunii* showa strain: Culture conditions affecting SSL3 expression” The 6th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会ポスター発表) . 2016 年 6 月 27 日. アメリカ合衆国サンディエゴ. 講演番号 P1.10.
- ⑨ 角井 今日子, 河村 耕史, 古崎 康哲, 松本政秀, 石川 宗孝「微細藻類のクロレラの脂質生産を最大化するための培養条件の検討」第 50 回日本水環境学会 (口頭発表) . 2016 年 3 月 16 日. アステイ徳島 (徳島県徳島市) . 講演番号 1-H-15-2.
- ⑩ 河村 耕史「微細藻類による CO2 排出削減技術」日本農業気象学会近畿支部・生態工学会関西支部共催 シンポジウム (招待講演) . 2015 年 12 月 5 日. 大阪工業大学うめきたナレッジセンター (大阪府大阪市) .
- ⑪ 角井 今日子, 河村 耕史, 古崎 康哲, 石川 宗孝「微細藻類のクロレラの脂質生産量はフローサイトメーターを使って定量できるか?」第 39 回日本藻類学会 (ポスター発表) . 2015 年 3 月 21 日. 九州大学 (福岡県福岡市) . 講演番号 P75.
- ⑫ 角井 今日子, 中瀬 大地, 河村 耕史「塩添加と窒素・硫黄欠乏が誘導するクロレラのオイル蓄積量の比較」第 49 回日本水環境学会 (口頭発表) . 2015 年 3 月 17 日. 金沢大学 (石川県金沢市) . 講演番号 3-E-12-1.
- [その他] (一般向け講演など 計 5 件)
- ① 河村 耕史「未来のバイオ燃料～微細藻類が作る「緑の原油」～」. 大阪工業大学 化学・環境・生命工学 連携融合公開講座 講演. 大阪工業大学. 2016 年 11 月 19 日.
- ② 河村 耕史「未来のバイオ燃料～微細藻類が作る「緑の原油」～」夢ナビライブ (講義 30 分, 高校生 100 名) . インテックス大阪. 2016 年 6 月 18 日.
- ③ 河村 耕史「未来のバイオ燃料～微細藻類が作る「緑の原油」～」. 大阪工業大学 第 1 回ナレッジイノベーション講座 講演 50 分. グランフロント大阪. 2013 年 12 月 25 日.
- ④ 河村 耕史「未来のバイオ燃料～微細藻類が作る「緑の原油」～」出張講義. 大阪府立山本高校. 2015 年 11 月 20 日.
- ⑤ 河村 耕史「未来のバイオ燃料～微細藻類が作る「緑の原油」～」藤井寺工科高校. JST サイエンスパートナーシップ事業 講義・演習. 大阪工業大学. 2014 年 12 月 14 日.
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
河村 耕史 (Kawamura, Koji)  
大阪工業大学・工学部・准教授  
研究者番号 : 00595613
- (2)連携研究者  
岡田 茂 (Okada, Shigeru)  
東京大学・農学生命科学研究科・准教授  
研究者番号 : 00224014
- (3)研究協力者  
Ardianor  
University of Palangka Raya (Indonesia) · Faculty of Agriculture · Lecturer.  
Segah, Hendrik  
University of Palangka Raya (Indonesia) · Faculty of Agriculture · Researcher.  
Sulmin, Gumiri  
University of Palangka Raya (Indonesia) · International Office · Professor.