

## 機能改良による高速CO<sub>2</sub>固定大型藻類の創出 とその利活用技術の開発



PM：植田充美

京都大学高等研究院・特任教授

PJ参画機関：京都大学 高等研究院、工学研究科、  
京都工芸繊維大学、三重大学、関西化学機械  
製作（株）、Green Earth Institute（株）

- ① **大型藻類の育種と機能強化、完全利用を加速させる基盤技術の開発（三重大）**  
有用ホンダワラ科褐藻類からの組織培養と再生技術、褐藻類からのプロトプラスト作製技術、室内水槽での大型藻類の培養技術および幼体を対象とした光合成測定・CO<sub>2</sub>固定量測定技術、藻類からの核酸抽出技術、微生物前処理法について確立する。
- ② **大型藻類におけるゲノム編集技術の確立（京都工芸繊維大，京大高等研究院）**  
ドナーDNA/gRNAハイブリッドと精製タンパク質の導入によるゲノム編集法、遺伝子発現カセットの導入によるゲノム編集法を確立する。
- ③ **CO<sub>2</sub>固定速度の加速に向けたCO<sub>2</sub>固定関連酵素群の探索と機能評価（京大工，京大高等研究院）**  
大型藻類由来CO<sub>2</sub>固定代謝関連酵素の機能評価と微生物由来高機能Rubiscoの探索と機能評価を行い、有用な酵素を同定する。
- ④ **大型藻類のCO<sub>2</sub>固定加速のための装置開発（関西化学機械製作）**  
大型藻類培養へのマイクロバブルの導入や攪拌装置を開発して、大型藻類育種の促進をめざす。
- ⑤ **大型藻類のカスケード生産プロセスの一環としてのエタノール発酵の実用化に向けた開発（GEI）**  
各種多糖類を分解・資化できるように構築したアーミング酵母を用いてエタノール発酵の最適条件を決定し、ベンチスケールでの大型藻類からのエタノール発酵を行う。

## 【基盤技術】（ラボスケール）

● 2011-2017

CREST「藻類完全利用のための生物工学技術の開発」（京大・植田）

→ 大型藻類の全ての多糖成分をエタノールに変換できる アミング酵母触媒の開発

● 2021

NEDO先導研究「大型海藻類の完全利用に向けた基盤技術の開発」（三重大・柴田）

→ 大型藻類の育種基盤とマリンポリフェノール抽出法の開発



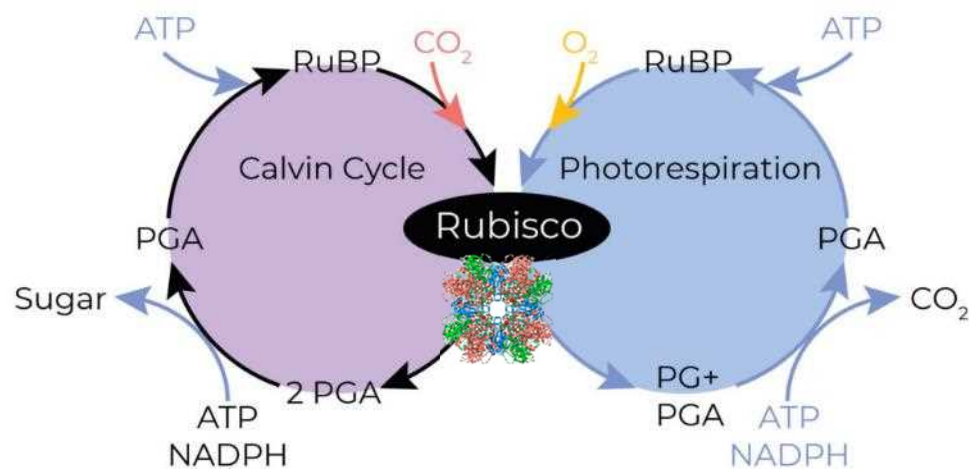
## 【提案環境循環を実現する方法への展開】（ラボスケールからベンチスケールへ）

- ① 自然プロセスの人為的加速によるCO<sub>2</sub>の効率的回収と吸収技術
- ② 吸収CO<sub>2</sub>の有益な資源への利活用転換技術

# CO<sub>2</sub>固定酵素Rubiscoの特性の解析

Rubisco (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) :

カルビン-ベンソン回路においてCO<sub>2</sub>固定反応に関与する唯一の酵素

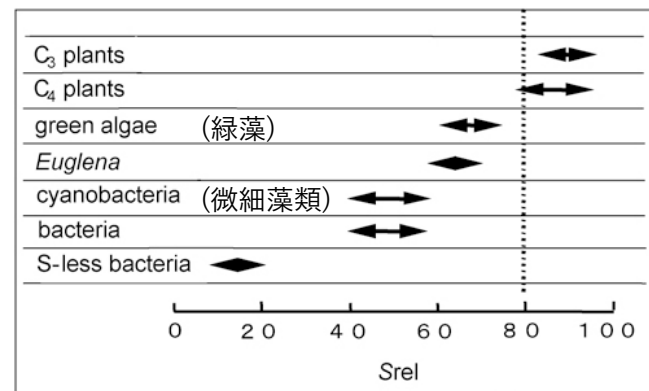


CO<sub>2</sub>への親和性が高く、O<sub>2</sub>と反応しにくい性質が求められる

- $S_{rel}$  : Carboxylase/oxygenase relative specificity of Rubisco ( $\tau$  値) による評価

$$S_{rel} = \frac{V_{cmax}/K_{cm}}{V_{omax}/K_{om}}$$

- 様々なRubiscoのCO<sub>2</sub>特異性



- 各生物種由来Rubiscoの  $S_{rel}$  値

ハウレンソウ:	80-90
藍藻 (微細藻類):	40-50
紅藻 <i>Galdieria</i> :	238
紅藻 <i>Cyanidium</i> :	230
褐藻 (大型藻類):	?

## C02 の吸収量（地球の温暖化抑制効果）一褐藻が最大

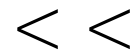
海草：アマモなど（緑藻と同等）



海藻：緑藻



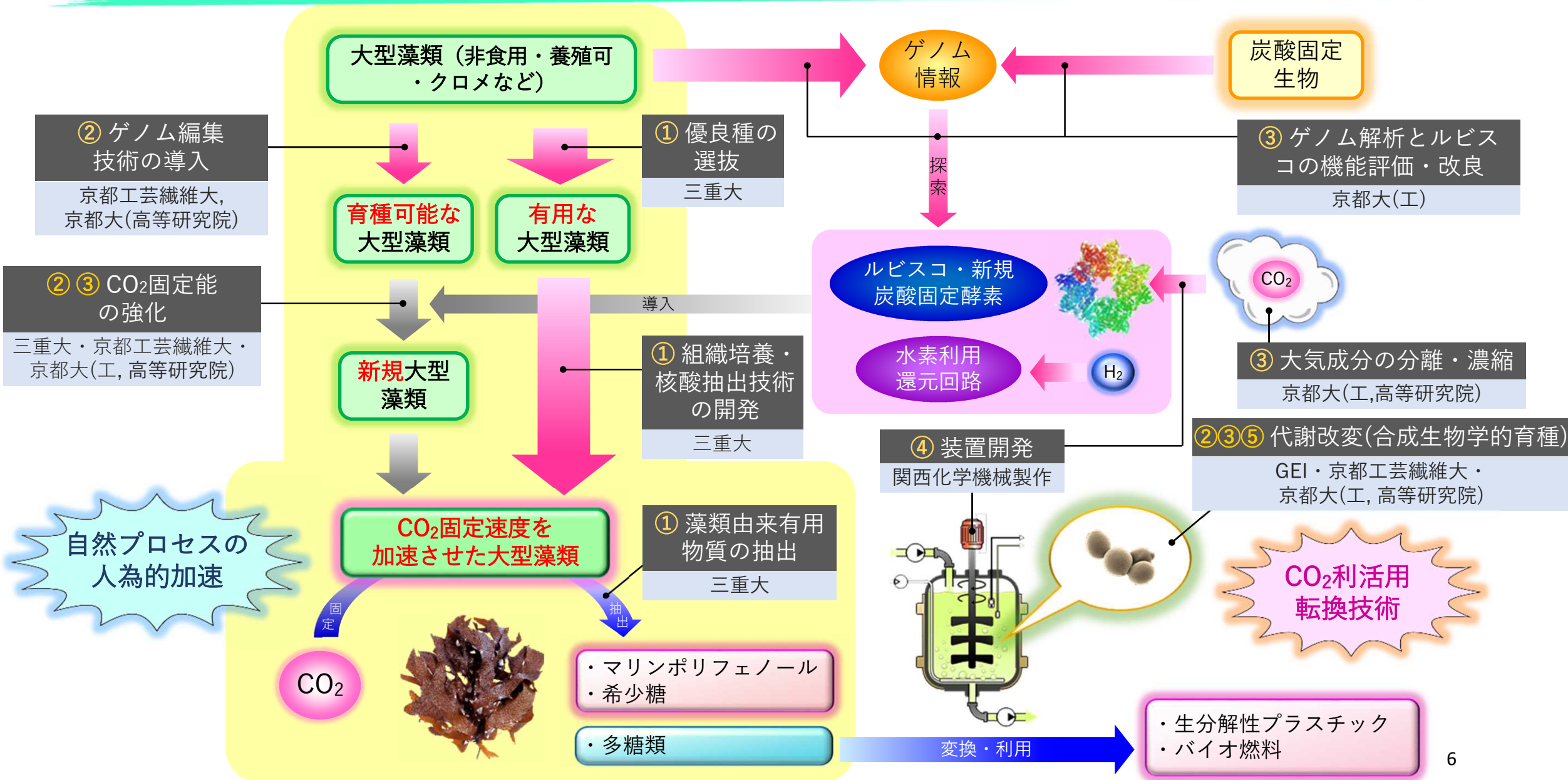
紅藻



褐藻（大型藻類）



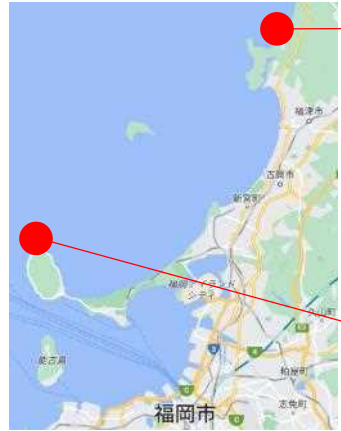
# 天然優良株：CO<sub>2</sub>固定量の向上一日本の排他的経済水域に適した天然優良株の選定



# 有用大型天然藻類の選抜と育種 ⇒ 基盤育種法の確立

## 調査地点

福岡



福津市恋の浦地区



福岡市東区勝馬海岸



鳥羽市広畑地区



鳥羽市菅島

鳥羽



## 研究のアプローチ

フィールド調査



①分布する海藻種の調査  
(種同定と藻長の測定)



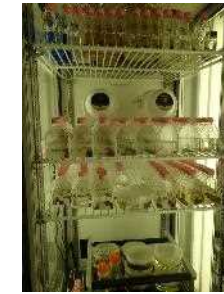
②環境水の調査  
(pH, 塩分濃度, 濁度  
溶存酸素, 海水比重の測定)



コンブ類



ホンダワラ類



③配偶子・組織培養



④受精卵の採取

大型藻類の育種



⑤Imaging PAM 測定

⑥元素分析

CO<sub>2</sub>固定能の評価

海藻養殖ユニット (人工的な藻場) の  
開発・展開へ

CO<sub>2</sub>固定能の高い大型藻類で構成  
年間を通して展開可能

# ホンダワラ科褐藻類の調査とETR (光合成) 測定

## 調査地点で確認したホンダワラ科褐藻類

鳥羽市	
トゲモク	鳥羽市広畑地区において優占種
アカモク	鳥羽市広畑地区, 菅島塩浜において優占種
福岡市・福津市	
ヤナギモク	
エンドウモク	
タマハハキモク	勝馬海岸にて優占種。
ジョロモク	
アキヨレモク	
ナラサモ	
フシスジモク	
アカモク	同時期の鳥羽市の藻体ほど大きくなく, 群落も作らない
ウミトラノオ	
ヤツマタモク	



アカモク



トゲモク



タマハハキモク

## ETR測定結果

ETR\* ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )

アカモク 平均	7.9
最大	10.0
最小	5.1
トゲモク 平均	6.6
最大	9.1
最小	4.7
ワカメ平均	3.0
最大	3.1
最小	2.8
アキヨレモク	5.7
ヤツマタモク	8.3
ヤナギモク	6.0
タマハハキモク	10.9
ナラサモ	10.4
ジョロモク	7.0
フシスジモク	11.1
エンドウモク	5.4

### \*ETR

光合成の最上流から下流への電子伝達の速度である電子伝達速度 (electron transfer rate, 単位は  $\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

## 優占ホンダワラ科褐藻類3種の生長について調査を行った

アカモク (菅島)	3月17日	5月1日
平均	101 cm	425 cm
最大	-	452 cm
最小	-	391 cm

トゲモク (菅島)	3月17日	5月1日
平均	44 cm	87 cm
最大	-	95 cm
最小	-	84 cm

タマハハキモク	3月22日	4月19日	5月17日
平均	120 cm	418 cm	338 cm
最大	-	450 cm	440 cm
最小	-	360 cm	232 cm

4月中旬にかけて伸張することが分かった

ETRの値は, ホンダワラ科褐藻類は、コンブ科より高い値を示す傾向にあった!



# 天然の大型藻類の養殖を支援するシーズバンク樹立



アカモク幼胚および発芽



アカモク幼体



## 2024年度の最終目標

- ① 有用藻種の幼体を中心に閉鎖系での培養条件を確立する
- ② 藻長は3 mmとし, 3 mmサイズまでの培養期間は、30日以内を目標とする
- ③ 成体のサイズについては、藻長20 cmを目標とする
- ④ 得られた幼体を用いて光合成量とCO<sub>2</sub>固定量の測定技術を開発する



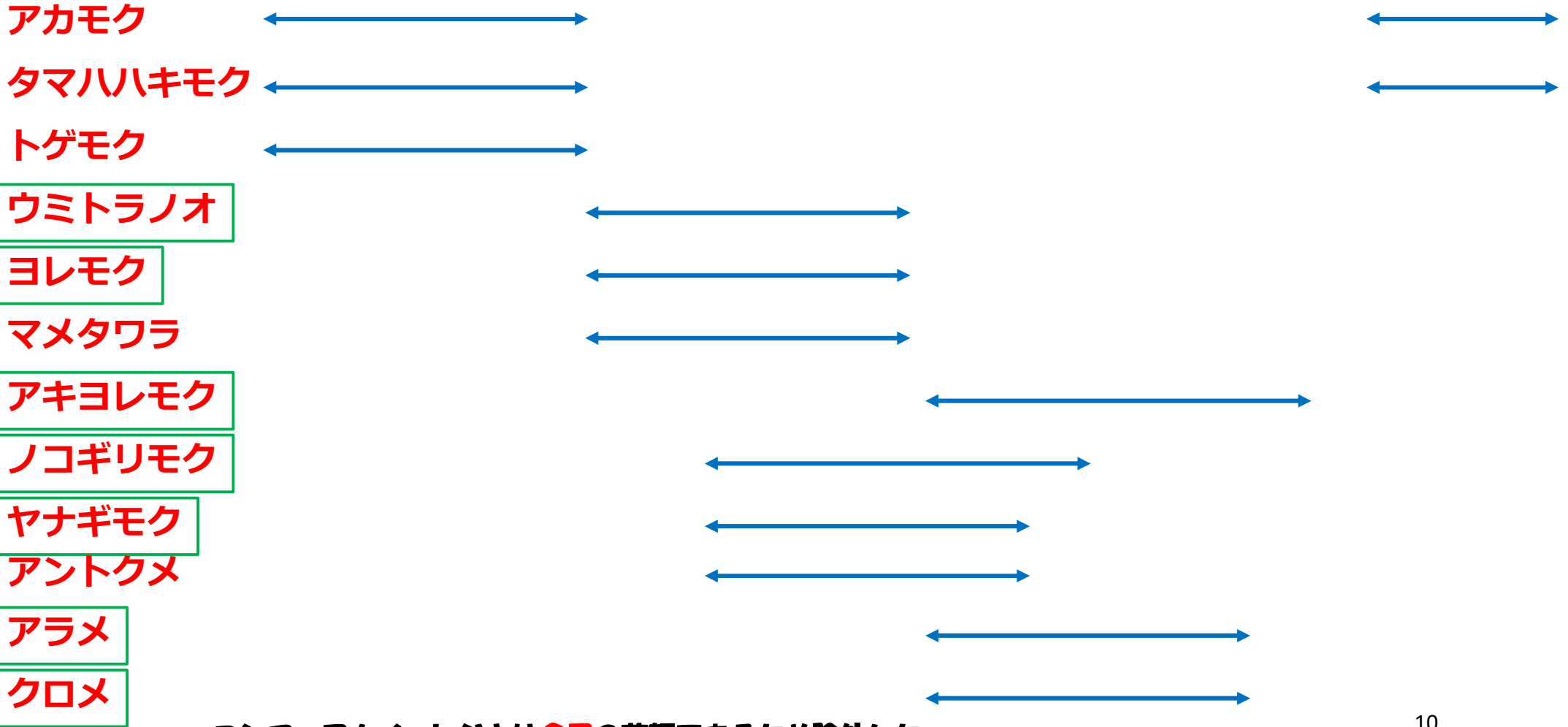
**大型藻類養殖用の世界初のシーズバンクの樹立  
ーベンチャー化予定（候補地：三重県志摩市）**

# 主な大型藻類の通年生産可能

これらの海藻種を組み合わせれば、海藻養殖ユニットにて通年での生産（CO<sub>2</sub>固定）が可能

赤文字：エネルギー生産用・藻類  
 緑枠：リファイナリーも可能な藻類

春			夏			秋			冬		
3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月

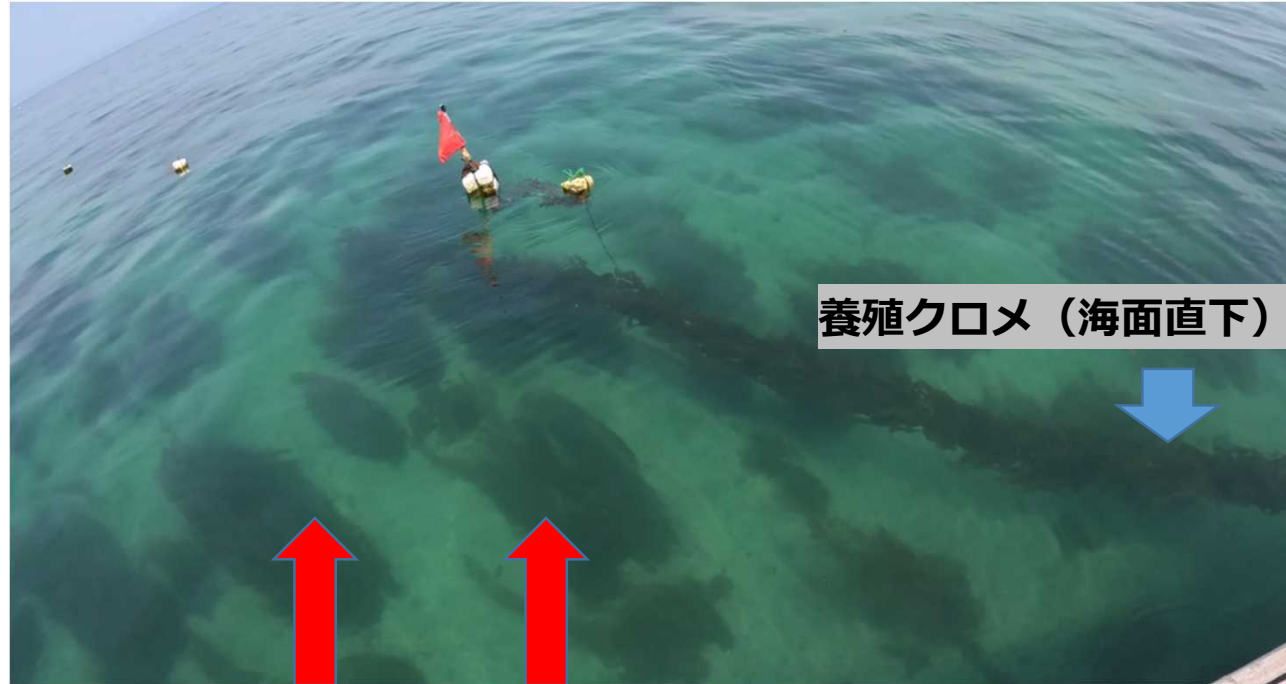


ホンダワラ科  
 褐藻類

コンブ科  
 褐藻類

コンブ、ワカメ、ヒジキは食用の藻類であるため除外した

# 共役育種法：養殖から直下の天然藻場発生（知財化済）



養殖クロメ（海面直下）



海底に広がったクロメの群落

養殖藻体から放出された遊走子（コンブ科褐藻類）や受精卵（ホンダワラ科褐藻類）が岩礁に着底し、天然藻場が形成される（**養殖生産を保護可能**）。ダイバー不要！

# ブルーカーボンは、グリーンカーボンを凌駕！



	澱粉糖質系 (1G)	木質系 (2G)	藻類 (3G)	
原料	農産物 (トウモロコシなど)	森林 (スギなど)	微細藻類 (スピルリナなど)	大型藻類 (クロメ)/(ホンダワラ)
生産性 (t/ha/年)	11	9	10~20	30
CO <sub>2</sub> 固定速度 (kg-CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> /年)	1.6	0.84	1.5~2.9	3.3
CO <sub>2</sub> 固定量比	2.3	1	7.6	13
バイオマスエネルギー生産工程	シンプル	複雑 (リグニン除去)	シンプル	シンプル (アルギン酸多糖類の活用が鍵)
問題点	食糧と競合	陸地を利用	陸地を利用, コンタミのリスク, コスト高	藻場の拡大
生産条件	日光, CO <sub>2</sub> , 淡水, 陸地, 肥料, 農薬	日光, CO <sub>2</sub> , 淡水, 陸地, 肥料, 農薬	日光, CO <sub>2</sub> , 淡水/汽水, 陸地	日光, CO <sub>2</sub> , 海水

## 大型藻類がもつ その他のメリット

天然藻体を確保しやすい

養殖技術が確立されている

約6ヶ月で藻長3-5mの藻体を確保できる

食用と用途と競合しない

稀少な有用メタボライトを持つ

フロロタンニン類 (マリンポリフェノール類\*)を持つ

フロロタンニン抽出液の市場価格：25,000円 (kg)

\*商標登録 登録第6216128号, 登録第6216129号 (国立大学法人三重大学)

### 【引用】

- <http://www.ffpri.affrc.go.jp/research/dept/22climate/kyuushuuryou/documents/page1-4-per-year.pdf>
- 経営センサー 2021.12. 「微細藻類の産業利用」

# ゲノム編集技術の確立に向けたクロメ形質転換用配偶体の培養

## 研究のアプローチ

元となる配偶体



① 配偶体の増産  
(栄養生長)



② 増産した配偶体の成熟



③ 幼体の生産

プロトプラスト  
ゲノム編集



高速CO<sub>2</sub>固定能を持つ  
ゲノム編集クロメの開発

オーダーメイドで幼体を生産可能な技術開発が必要



粒径2 mm前後の配偶体を1~2粒  
バッフルフラスコに入れ, 下記の  
培養条件にて, 振盪培養

### 培養条件

光量 : 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (光量子束密度)

温度 : 10°C シェーカーによる振盪培養

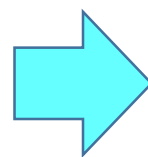
18時間明期, 6時間暗期,

**1/4改変鉄フリー・PESI培地 (抗生物質入り)**



Motomura T and Sakai Y  
日水誌, 47, 1535-1540, 1980.

ミツイシコンブの成熟 (卵形成) にキレート鉄が  
有効 ⇔ **栄養生長に鉄は不要**



配偶体について約2カ月の  
培養で約**100~250倍**の  
増産を達成

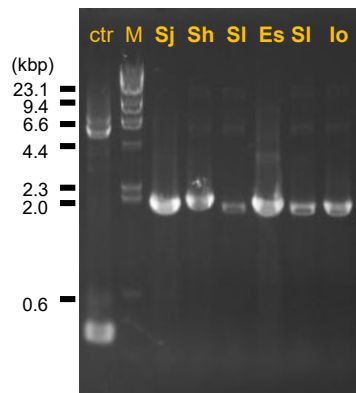
○ 元となった配偶体



予備試験を行い培養した  
配偶体からの**クロメ幼体**の  
発生を確認

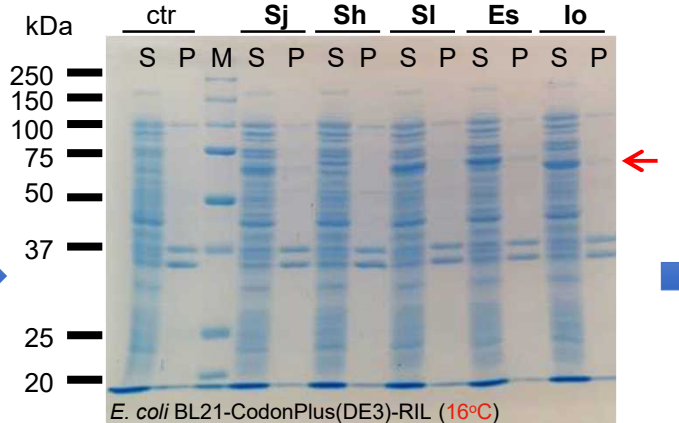
# 大型藻類由来CO<sub>2</sub>濃縮酵素の解析

## ③ Phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)



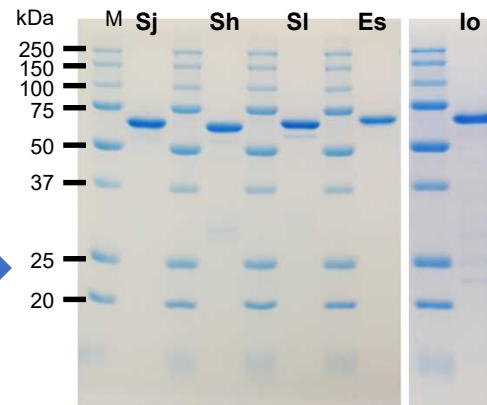
ctr: empty pET21a plasmid

遺伝子合成・大腸菌のクローニング

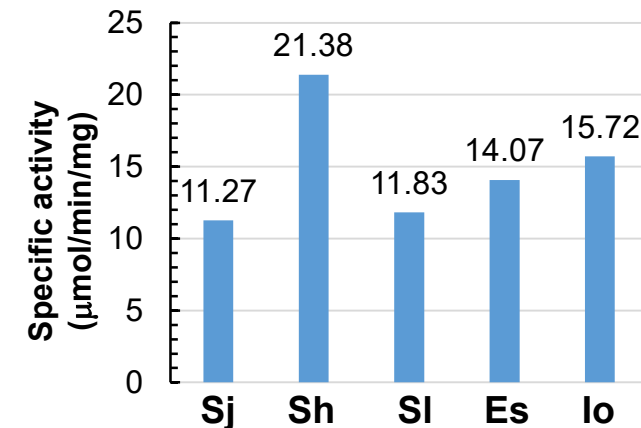


*E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIL (16°C)  
ctr: cells without induction; M: marker; S: supernatant; P: precipitate

遺伝子発現・可溶化の確認

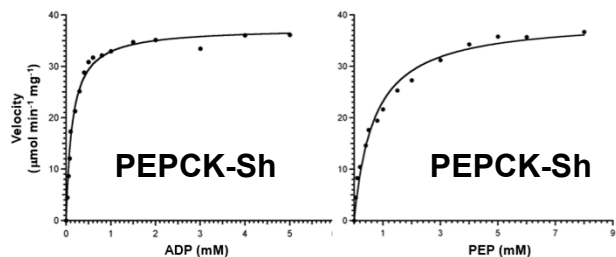


酵素精製



Partially purified protein was used

CO<sub>2</sub>固定活性の評価



### CO<sub>2</sub>固定活性の比較

Organism	Carboxylation (μmol/min/mg)
<i>Sargassum horneri</i> (アカモク) (PEPCK-Sh)	35.12
<i>Zea mays</i> (maize, C4 plant)	0.06
<i>Panicum maximum</i> (C4 plant)	1.4
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (single-cell green alga)	6.0
<i>Escherichia coli</i>	0.65

- マコンブ、アカモクなど5種の大型藻類由来のPEPCKに対してCO<sub>2</sub>固定活性評価 (精製PEPCKの解析は大型藻類で初)
- アカモク由来PEPCKは植物由来酵素(トウモロコシなど)の約30倍高いCO<sub>2</sub>固定活性
- 緑藻由来酵素の6倍近く高い活性

	ADP	PEP
V <sub>max</sub> (μmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> )	37.45 ± 0.56	39.22 ± 1.13
K <sub>m</sub> (mM)	0.14 ± 0.01	0.70 ± 0.07
k <sub>cat</sub> (s <sup>-1</sup> )	39.5 ± 0.6	41.4 ± 1.2
k <sub>cat</sub> /K <sub>m</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	2.82 × 10 <sup>5</sup>	0.59 × 10 <sup>5</sup>

速度論的解析 (アカモク由来)

タマハハキモク由来酵素も含め引き続き全5種の酵素の速度論的解析を進める

## 洋上風力発電施設と連携した 海藻養殖場の造成

## 海上公共施設の整備と連携した 海藻養殖場の造成

ウェンティ・ジャパン社（秋田）  
と三菱商事との**連携合意**



洋上風力発電の促進区域  
有望な区域の拡大  
(周南、秋田、能代港  
CNP港参画予定)



現在確定：**200 km<sup>2</sup>**



空港島周囲の藻場面積：**54 ha**  
+  
a (MSプロジェクトで達成)

将来的に・・・

日本の全ての海上空港  
(長崎, 北九州, 神戸, **関西**, 中部, 羽田)  
総周縁：**77 km**

への展開

関西エアポート社との**連携合意**ー関西万博展示予定

1期空港島と2期空港島間の水路での実証試験の実施で合意

**バイオマス自国生産、エネルギー安全保障に貢献！！**  
**電気エネルギーと共存！！**

# 四日市港内での大型藻類養殖の実証試験の場

## 「四日市港CNP形成計画」(2050年CNの達成)との連携

四日市港・港湾区域面積：約6,600 ha



港湾内への「海藻養殖ユニット」の設置による人工的な藻場の造成 (2023.11.28-)

「四日市港CNP計画」対象範囲内の年間CO<sub>2</sub>排出量  
 港湾ターミナル内：約0.57万トン  
 出入船舶・車両：約8.1万トン  
 港湾ターミナル外：約1687万トン (コンビナート)

2,200 haの海域 (1/3に相当) で海藻養殖を行った場合の試算値  
 現行の優良選定株養殖技術の導入 (210 トン/ha/年)  
**50万8200 トン-CO<sub>2</sub>/年**  
 → 港湾ターミナル内, 出入り船舶・車両の合計CO<sub>2</sub>排出量に対して**目標達成は確実!**  
**MS研究開発事業による海藻養殖の技術革新 (420 トン/ha/年)**  
**101万6400 トン-CO<sub>2</sub>/年**

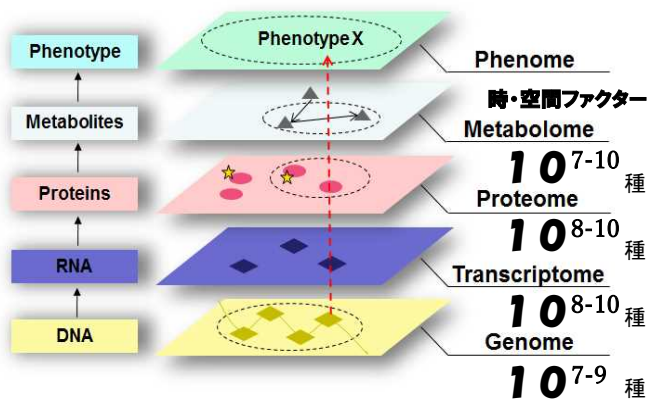
周南 (徳山) 港、秋田港、能代港などへも展開



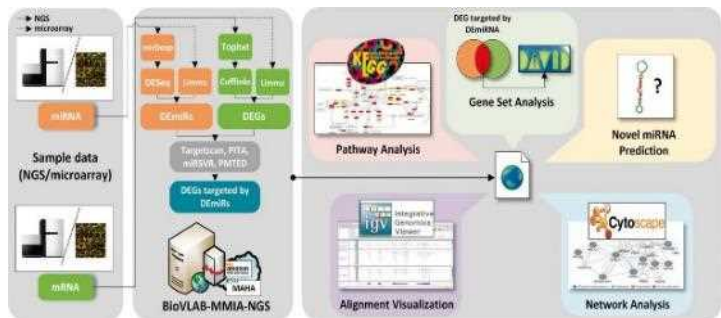
# データマネジメントと数理科学

## 【京都バイオ計測センターの活用（一点集中）】

大規模データの取得（生体分子の網羅的定量解析）



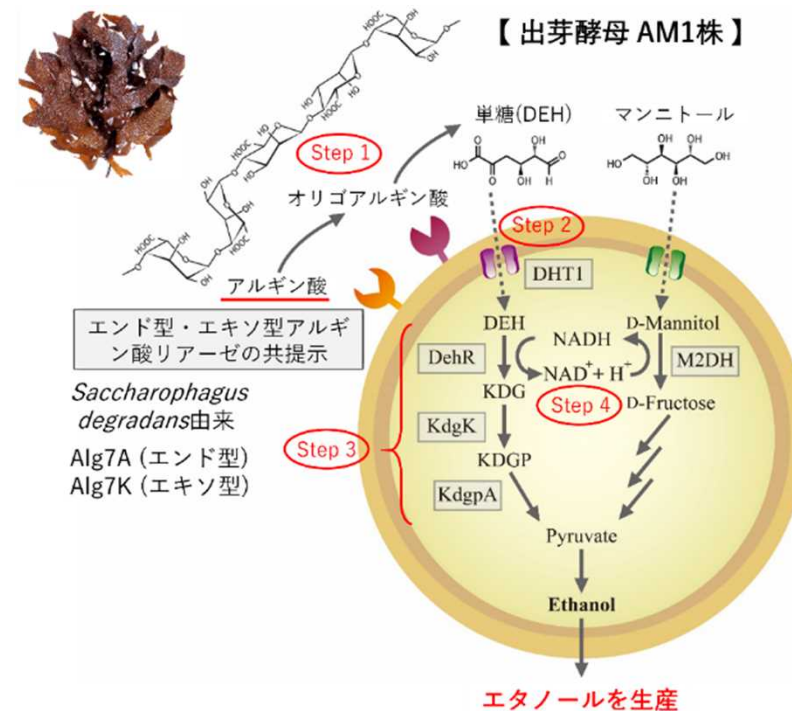
バイオインフォマティクスパイプライン



大規模データ解析とその利用

## 【合成生物学的育種モデル】

アルギン酸資化性酵母の分子育種



アルギン酸供給へー東大・伊藤先生へ

# 2029年度の最終目標

	澱粉糖質系 (1G)	木質系 (2G)	藻類 (3G)	
原料	農産物 (トウモロコシなど)	森林 (スギなど)	微細藻類 (スピルリナなど)	大型藻類 (クロメ)
生産性 (t/ha/年)	11	9	10~20	30
CO <sub>2</sub> 固定速度 (kg-CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> /年)	1.6	0.84	1.5~2.9	3.3
CO <sub>2</sub> 固定量比	2.3	1	7.6	13
バイオマスエネ ルギー生産工程	シンプル	複雑 (リグニン除去)	シンプル	シンプル (アルギン酸多糖 類の活用が鍵)
問題点	食糧と競合	陸地を利用	陸地を利用, コ ンタミのリスク, コスト高	藻場の拡大
生産条件	日光, CO <sub>2</sub> , 淡水, 陸地, 肥料, 農薬	日光, CO <sub>2</sub> , 淡水, 陸地, 肥料, 農薬	日光, CO <sub>2</sub> , 淡水/ 汽水, 陸地	日光, CO <sub>2</sub> , 海水

2029年  
のシナリオ



藻類(3G)
大型藻類
150
10.0
300
シンプル
解消可能
日光, CO <sub>2</sub> , 海水

# 大型藻類CO<sub>2</sub>固定の加速により地球環境の回復と物質生産を両立

Nature Positive// Nature Best Solution

Negative Emission (化石燃料の削減)

Blue Carbon Fixation

