

ラン藻による脱化石燃料技術開発

明治大学 農学部 農芸化学科
専任准教授 小山内崇

2021年10月19日

想定される用途

- SDGs, 低炭素, 持続社会などを標榜することを目指す企業との協業
- プラ原料生産などを目指すが、高付加価値な製品やサービスとの組み合わせを協業企業と考える

自己紹介

小山内崇(おさないたかし) 明大農学部農芸化学科 准教授
環境バイオテクノロジー研究室

出身は埼玉県川口市

○学部

国際基督教大学教養学部 2002年卒

○大学院

東京大学院分生研 2007年にPhD (農学)

専門分野 分子生物学、生物工学、代謝工学、生化学



科学技術振興機構 (JST) の低炭素プロジェクトALCA代表 (2013~2022年度)

他に現在、科研費基盤Bと挑戦的研究 (萌芽) 代表



農学部は
川崎市多摩区

今年度のメンバー
総勢31名

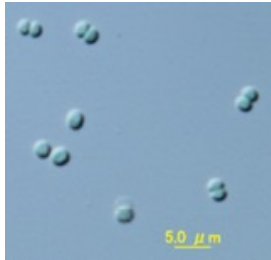


ブログやツイッターなども
ブログランキング大学教育部門
1位 (2020年後半~現在)

研究者としての目標
資源枯渇、地球温暖化、ゴミ問題の
解決

ラン藻による脱化石燃料技術開発

Synechocystis sp.
PCC 6803



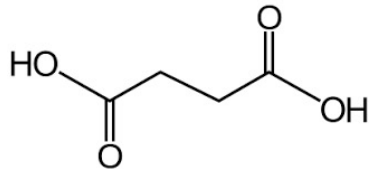
ラン藻（シアノバクテリア、アオコ）
光合成をする最も単純な生物

シアノバクテリア & テクノロジー
→ 「シアノロジー」

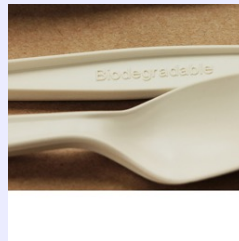
二酸化炭素でものづくり

発酵
(酸素を除く) ↓

「コハク酸」を作った



貝の旨味成分



コハク酸は旨味成分、プラ原料など汎用化学原料

特許出願10件
特許登録8件
(国内7、米国1)
特許出願準備中1件

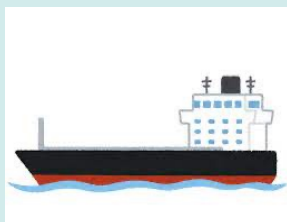
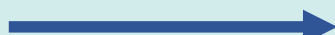
ビジョンと課題解決

目指す社会は、化成品の地産地消

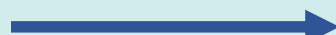
採掘、輸送、貯蔵など、石油製品の長い道のり



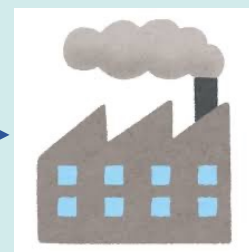
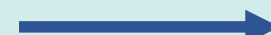
採掘



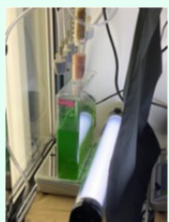
輸送



貯蔵



製造



製造までを1箇所で

ラン藻培養で石油製品（化成品）を“地産”

とはいえ、
簡単そうに見えて
難しいのが培養



培養ノウハウや特許で、
CO₂資源
化！

(株)シアノロジー※仮称

従来技術とその問題点

環境問題の観点から、藻類培養に大きな注目が集まっている。しかし・・・

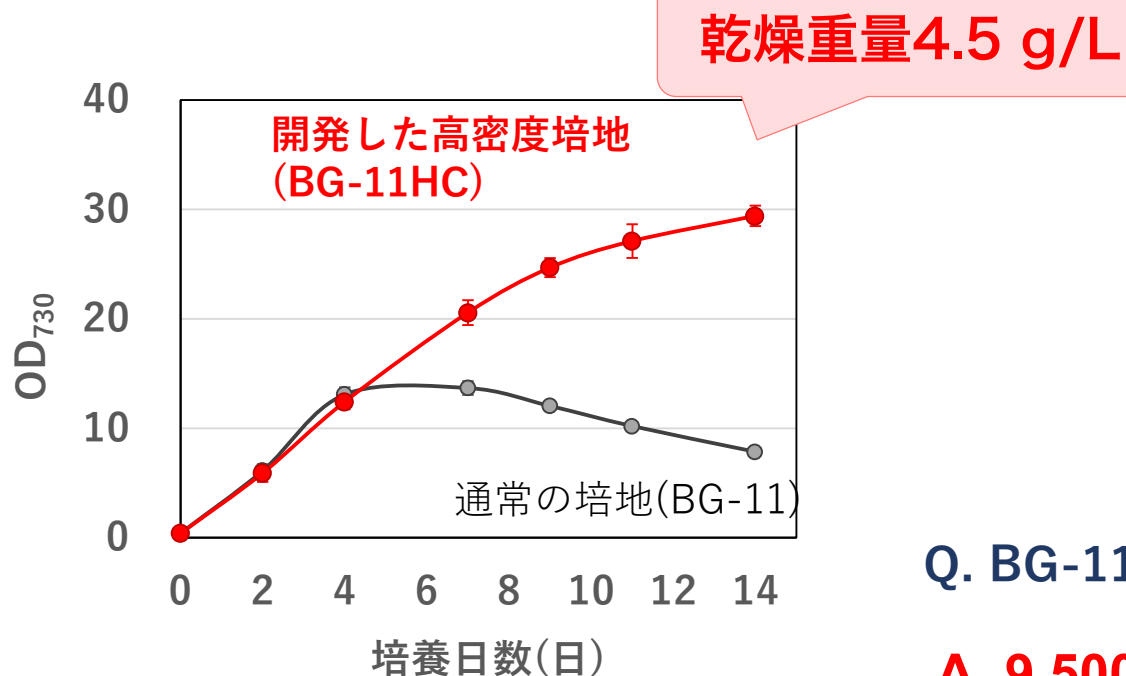
- 成功例は、健康食品と色素のみ
- 他の例は、コストに見合わなそう。環境への効果も不明
- 培養には大規模投資が必要

などの問題があり、**多くの企業が参入を迷っている。**

コア技術①

1. シアノバクテリアの高密度培養

培養法や培地を改良して、高密度培養を可能にした
BG-11HC (High Concentration) 培地



濁度(OD₇₃₀)

一般的な実験：OD₇₃₀ = ~1

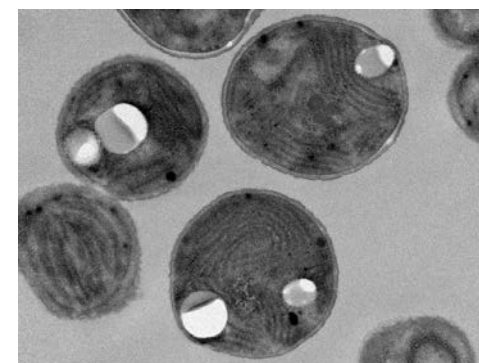
BG-11の最高記録：OD₇₃₀ = ~13

BG-11HC: OD₇₃₀ = ~30

(乾燥重量4.5 g/L)

グリコーゲン蓄積量 31%

30倍!



BG-11HC
14日目の写真

Q. BG-11培地を試薬で買うといくら?

A. 9,500 円/L!
(Thermo BG-11 medium)

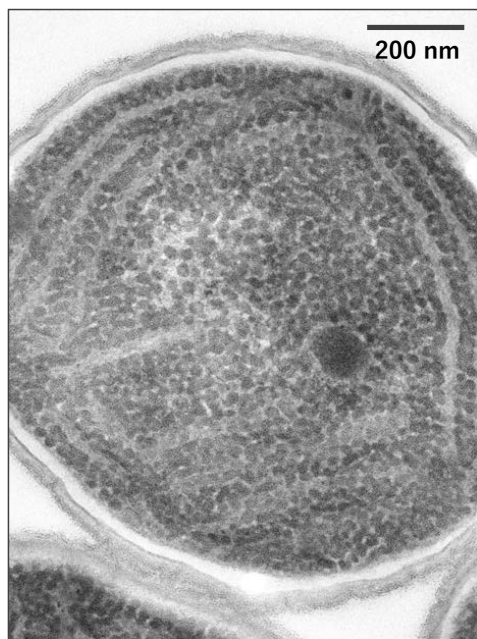


コア技術②

米国エネルギー省が選定した、バイオで作るべき12化合物の1つ

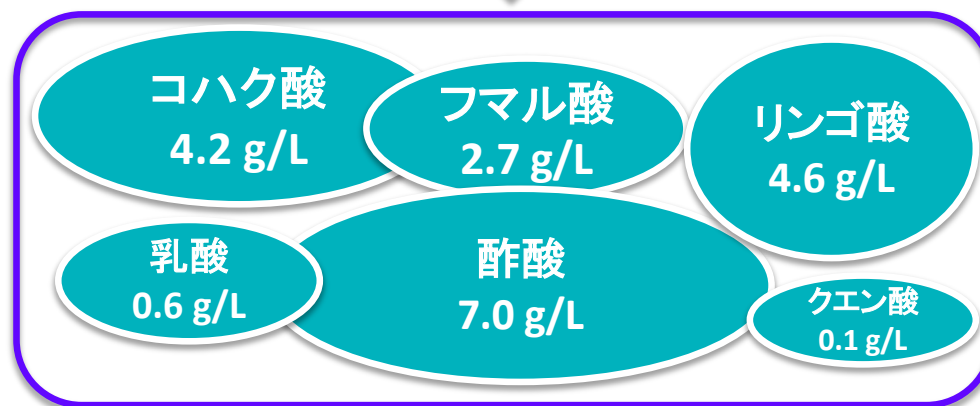
2. 発酵によるC4ジカルボン酸（コハク酸、フマル酸、リンゴ酸）生産

シアノの発酵（嫌気培養）で、細胞外にコハク酸などのカルボン酸が放出



光合成の糖が発酵で“カルボン酸”に

全カルボン酸 19.2 g/L
(細胞は40 g/L)



Iijima et al. 2021
Metab. Eng.
小山内ら 特願
2020-058792

コア技術② 実は価値の高いカルボン酸「フマル酸」と「D-乳酸」

1. バイオ生産が難しいフマル酸

フマル酸はプラ原料、食品添加物、医薬品（国内市場2万トン）。

研究グループ	生物	細胞量	外部からの炭素源投入	フマル酸力価	フマル酸生産効率
Song et al. 2013	大腸菌	10 g/L	80 g/L glucose	28.2 g/L	448 mg/L/h
Wu et al. 2018	クモノスカビ	9 g/L	125 g/L sugar from corncob hydrolytes	49.1 g/L	409 mg/L/h
Xu et al. 2013	酵母	5.8 g/L	50 g/L glucose, 0.1 g/L Urea	5.6 g/L	197 mg/L/h
This study (CitHox)	シアノバクテリア	40 g/L	なし	3.0 g/L	31 mg/L/h (0-96 h)

発酵なしのフマル酸生産法を開発中。特許出願準備中

2. 値段の高いD-乳酸

シネコシスティスは、光学純度100%でD-乳酸を作る



試薬の価格は、5 gで2万円（和光純薬）

培養系の立ち上げや培養セットのOEMで事業化

3. 培養技術

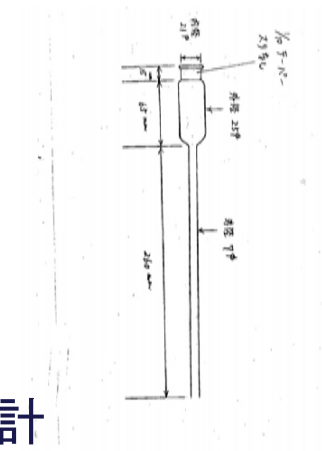


(小山内ら 特願2019-184680)

長所 炭素が漏れない、コンタミしにくい
短所 培地がアルカリ化する

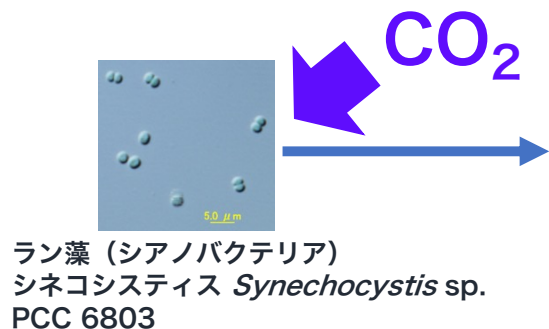
培養のスケールアップに関しては、 コラボが必要

さまざまなフラスコ で培養



コア技術①～③を組み合わせた 持続的バイオ事業

コハク酸やフマル酸と顧客企業に合わせた高付加価値物質
の組み合わせを提供



1. 培地 (研究者、エネルギー & 工業関連)
2. 培養装置 (研究者、エネルギー & 工業関連)
3. 藻類の受託生産 (全企業)

実験室レベルで生産できるものから始める

最終産物の生産だけでなくプラットフォームを目指す

革新性・優位性

- 培養ノウハウ
- 特許 (出願 10 件、登録 8 件)
- 研究基盤 (ラボ & 人材)
- 企業共同研究実績

まもなく抗体販売開始!

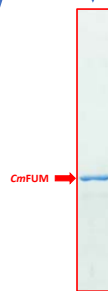


4. コハク酸, 乳酸, ポリヒドロキシ酪酸 (化学、食品)



5. 食用色素フィコシアニン (食品、化粧品)

6. 水素 (エネルギー・石油関連)

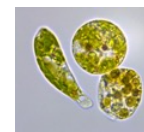


7. 酵素・抗体 (研究者、分析、食品メーカー)

8. 飼料・肥料 (一般、農業畜産)



スピルリナ



ユーグレナ

9. 食用藻類 (食品メーカー)

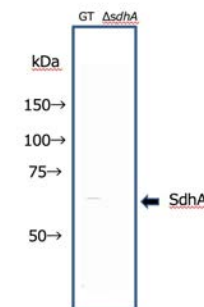


Fig. 1. Western blot analysis of SdhA in glucose-tolerant strain of *Synechocystis* sp. PCC 6803 (GT) and in *sdhA* deletion mutant ($\Delta sdhA$). Predicted molecular weight: 63.7 kDa. Primary antibody: anti SdhA antibody at 1:4000 dilution. Secondary antibody: Alkaline phosphatase conjugated anti rabbit IgG antibody at 1:20000 dilution.

実用化に向けた課題

- ターゲットによって、製品化までの年数が異なる
- 成長ターゲットについては、研究開発をしながらの製品化が必須
- 実用化に向けて、スケールアップが必須（ただし、スケールアップ技術そのものも事業化できる可能性あり）

新技術の特徴・従来技術との比較

- 初期ターゲットと成長ターゲットを分けた事業プランである
- 藻類の中で、最も育てやすいラン藻（シアノバクテリア）を使う
- バイオ系であるが、スモールスタートが可能

初期ターゲットと成長ターゲット

初期ターゲット：高付加価値物質

培地：1万円/L

培養器具：数千円～数万円/個

ラン藻酸加水分解物

酵素：数万円/mg

抗体：数万円～数十万円/mL

フィコシアニン（色素）：1万円/g

培養技術コンサルティング

研究開発などを行っている企業や大学、研究機関が顧客
市場規模は小さい。

成長ターゲット：環境問題に貢献する物質

バイオプラ原料（コハク酸など）：数百円/kg

化学・食品メーカー

市場規模は10万t/年以上で、今後も成長

「環境問題に取り組まない企業は、資金繰りやブランド力で大きな機会損失」

初期ターゲットの例 ラン藻酸加水分解物

初期ターゲットと成長ターゲット

プロセスが少ないラン藻加水分解物

好気培養→回収→3.5%硫酸(100℃, 3時間) → $\text{Ca}(\text{OH})_2$ で中和→遠心、上清
→8倍量のエタノール→遠心、上清→エタノールで洗う→沈殿(ラン藻酸加水分解物)



50 mLの培養液
($\text{OD}_{730} \approx 8$) から約30 mg
のラン藻酸加水分解物
※現時点では、まだ収率を上げる
検討はしていない。

ラン藻酸加水分解物は、グルコース
66.7%、残りは不明(アミノ酸?)

大腸菌や発酵微生物の栄養分として使う(一部は特願2019-184680)

成長ターゲットの中で価値の高い「フマル酸」と「D-乳酸」

初期ターゲットと成長ターゲット

1. バイオ生産が難しいフマル酸

フマル酸はプラ原料、食品添加物、医薬品（国内市場2万トン）。

研究グループ	生物	細胞量	外部からの炭素源投入	フマル酸力価	フマル酸生産効率
Song et al. 2013	大腸菌	10 g/L	80 g/L glucose	28.2 g/L	448 mg/L/h
Wu et al. 2018	クモノスカビ	9 g/L	125 g/L sugar from corncob hydrolytes	49.1 g/L	409 mg/L/h
Xu et al. 2013	酵母	5.8 g/L	50 g/L glucose, 0.1 g/L Urea	5.6 g/L	197 mg/L/h
This study (CitHox)	シアノバクテリア	40 g/L	なし	3.0 g/L	31 mg/L/h (0-96 h)

発酵なしのフマル酸生産法を開発中。特許出願準備中

2. 値段の高いD-乳酸

シネコシスティスは、光学純度100%でD-乳酸を作る



試薬の価格は、5 gで2万円（和光純薬）

協業、共同研究へのワークフロー



初期導入コスト

最低20~30万円

通常80~100万円

贅沢200~300万円

シアノロジーと協業するメリット

1. 事業のスモールスタートが可能
2. 長年蓄積された培養ノウハウと特許
(出願10件、登録8件)
3. 若手人材が豊富
4. 大学ブランド
5. 研究室基盤

必要な物品例

試薬

培養ガラス器具

培養インキュベータ

光源

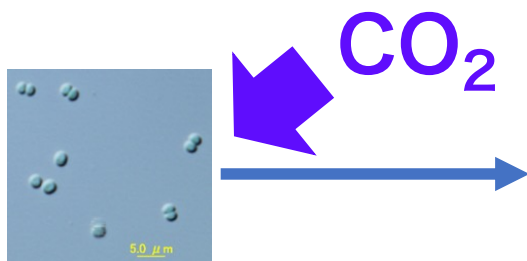
CO₂ボンベ,エアポンプ

滅菌装置

製品・サービスの内容

コハク酸と顧客企業に合わせた高付加価値物質の組み合わせを提供

初期ターゲット(高付加価値物質)と一緒に考える！



ラン藻 (シアノバクテリア)
シネコシスティス *Synechocystis* sp.
PCC 6803



1. 培地 (研究者、エネルギー & 工業関連)
2. 培養装置 (研究者、エネルギー & 工業関連)
3. 藻類の受託生産 (全企業)

実験室レベルで生産できるものから始める

最終産物の生産だけでなくプラットフォームを目指す

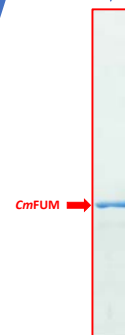


4. コハク酸, 乳酸, ポリヒドロキシ酪酸 (化学、食品)



5. 食用色素フィコシアニン (食品、化粧品)

6. 水素 (エネルギー・石油関連)

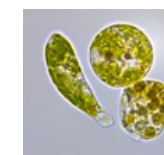


7. 酵素・抗体 (研究者、分析、食品メーカー)

8. 飼料・肥料 (一般、農業畜産)



スピルリナ

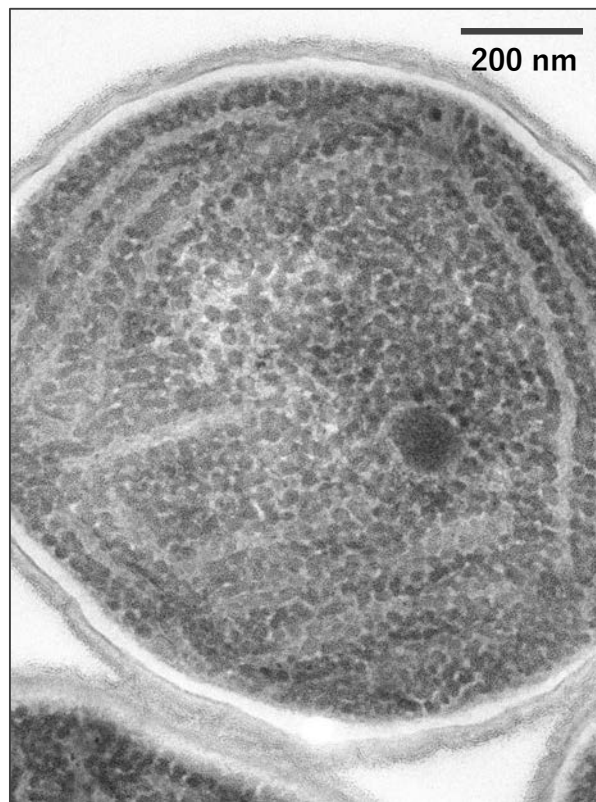


ユーグレナ

9. 食用藻類 (食品メーカー)

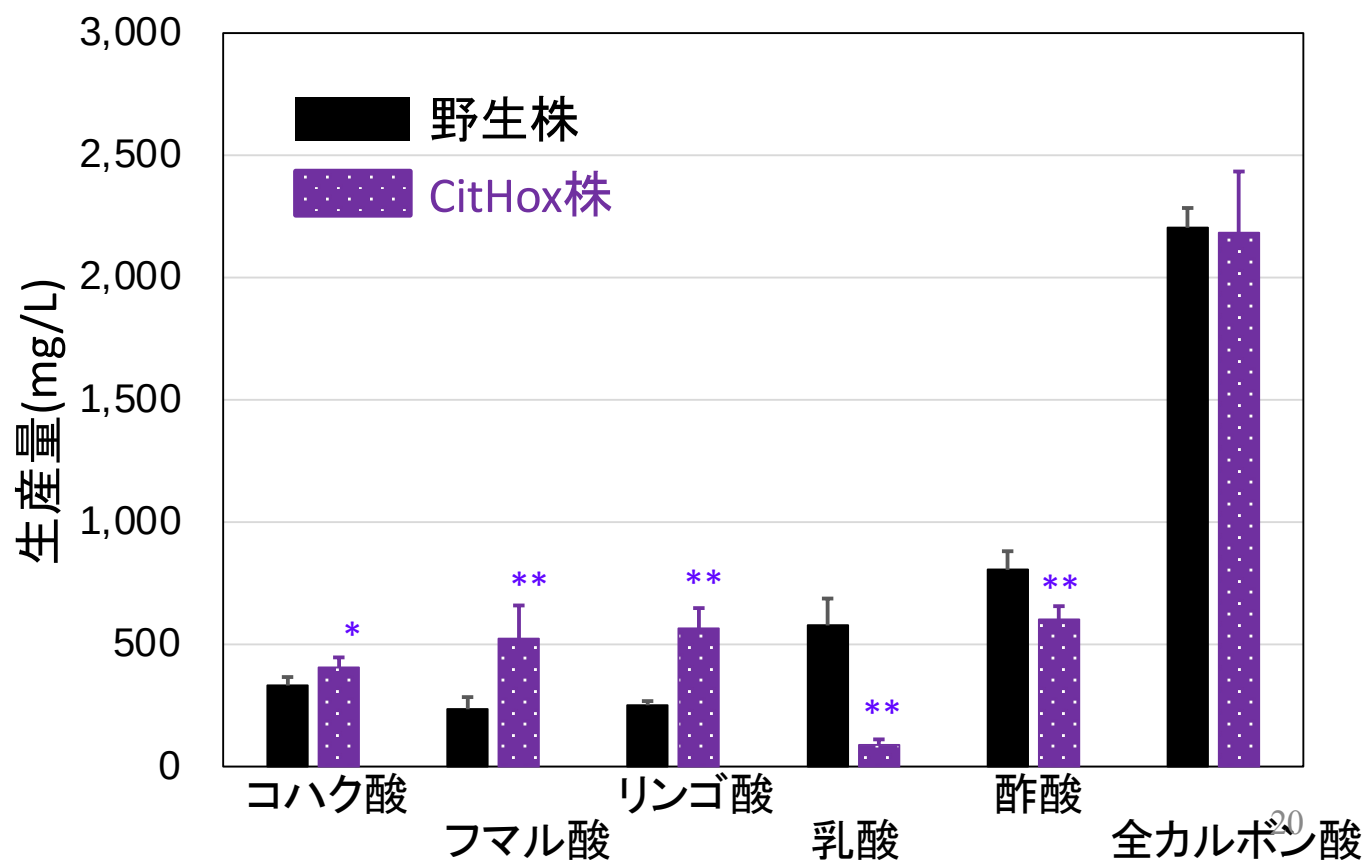
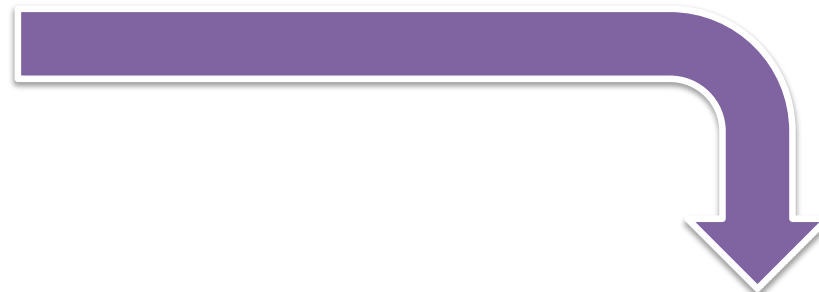
本技術に関する知的財産権①

- 発明の名称 : 有機酸の製造方法
- 出願番号 : 特願2020-058792
- 出願人 : 学校法人明治大学
- 発明者 : 小山内崇、飯嶋寛子、
渡邊敦子



シネコシスティス細胞

光合成で蓄積したグリコーゲンが、発酵によって“カルボン酸”に変換



本技術に関する知的財産権②

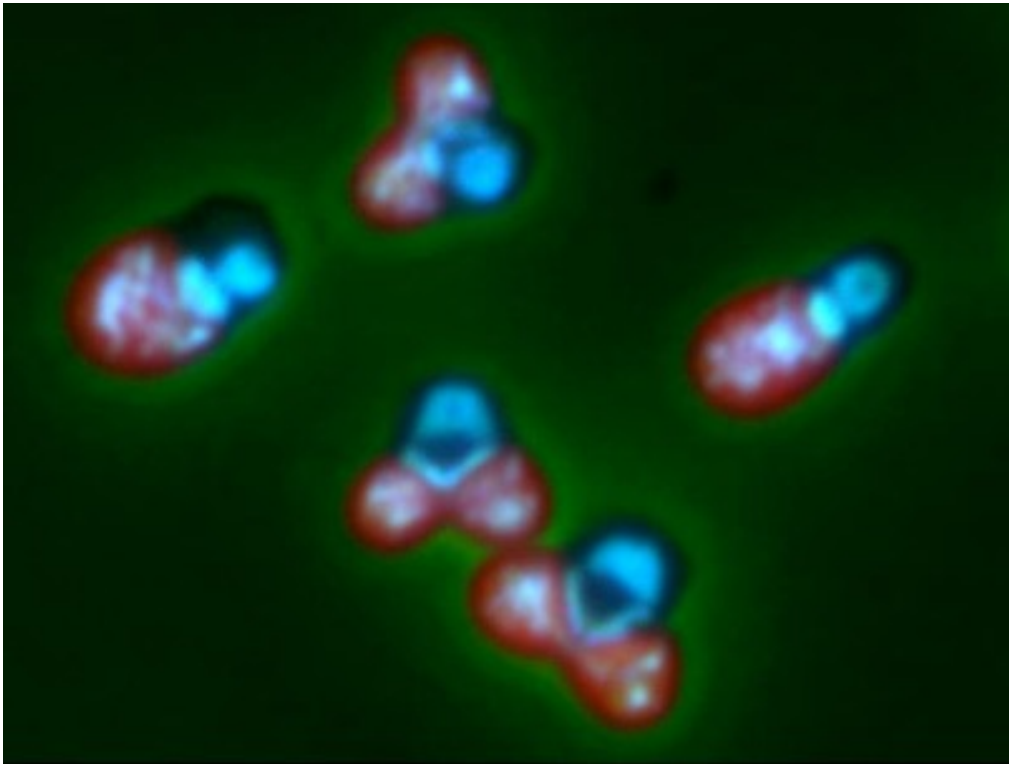
- 発明の名称：食品、食品の加熱処理方法、フィコシアニン含有物の製造方法、及び食品の製造方法
- 特許番号：特許第6681065号
- 出願人：学校法人明治大学
- 発明者：小山内崇、飯嶋寛子

温泉紅藻シズンを用いた有用物質生産



イタリアの酸性温泉から単離された単細胞性の紅藻。至適生育条件は温度42°C、pH2.5。
直径は1.5~2マイクロメートル。
ゲノムサイズは16.5 Mbp。イントロンを持つ遺伝子が極めて少ない。

これまでに、有機酸の細胞外生産、水素生産などの応用例はない。



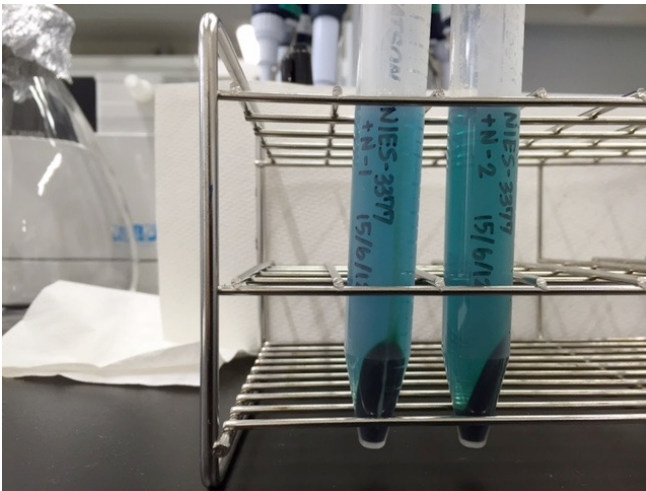
シズンの蛍光顕微鏡写真

写真の青く光っている部分はDNAで、上から細胞核、中央にV字型のミトコンドリア、赤い球状の部分は色素体で、分裂中のシズンは3つ球体が集まったような形になる。(写真中央など)。分裂間期のシズンは棒状(写真右上)。

提供: 黒岩先生

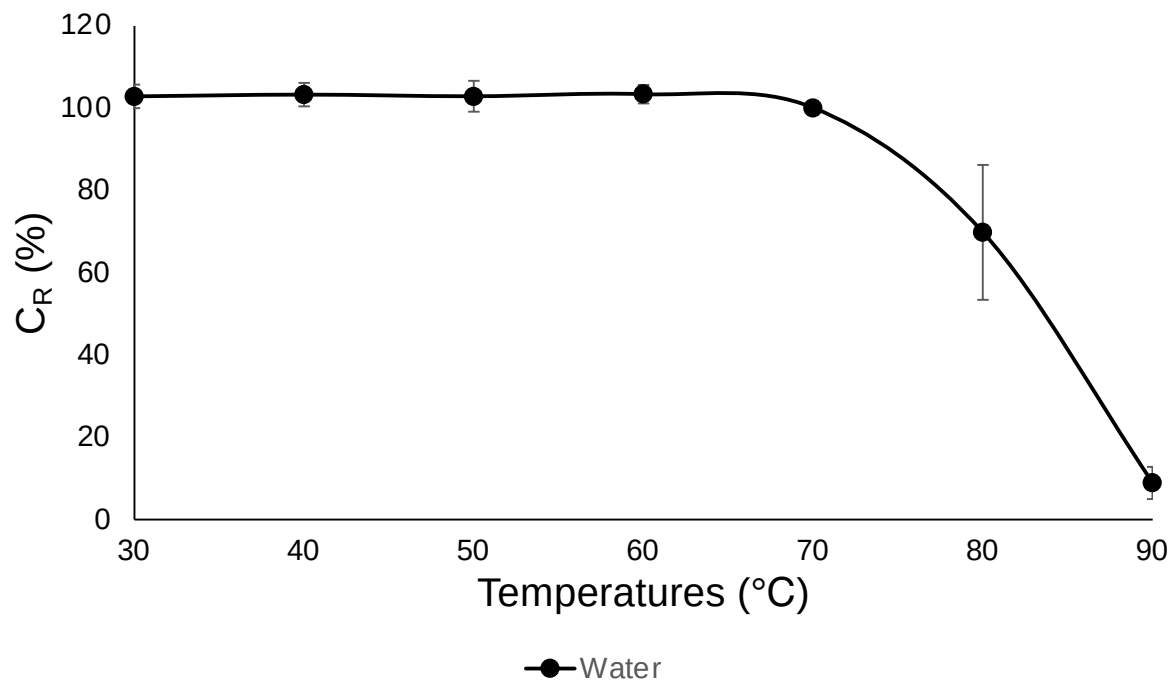
<http://www.biportal.jp/ja/column/679>

シゾンフィコシアニンの細胞外への放出



水だけでフィコシアニンタンパク質を抽出

フィコシアニンは、純度によって、500~100,000ドル/kg!
(Borowitzka, 2013 J. Appl. Phycol)。



従来のフィコシアニンは、
40~50°Cで失活するが、
シゾンフィコシアニンは
60~70°Cでも失活しない
耐熱性！
また、耐酸性もある。

温泉紅藻シゾンを用いた有機酸の生産

好気培養(増殖フェーズ)

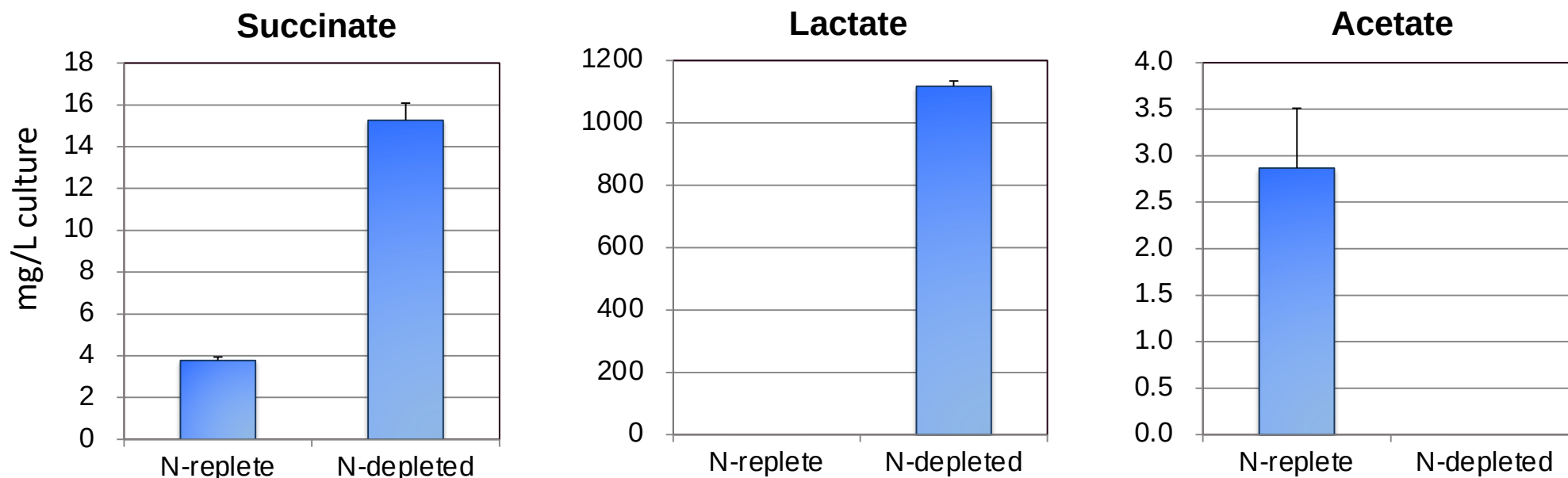
M-Allen培地 (pH2.5) で培養 (N-replete)。
M-Allen培地から窒素を除いた培地を作製し、
1週間培養 (N-depleted)



嫌気発酵培養(生産フェーズ)

OD₇₃₀ = 20となるように、20 mM
Hepes-KOH (pH7.8) に懸濁。
40°C、暗条件で振盪3日間

上清の有機酸をHPLCで測定



窒素欠乏培養をすることで、コハク酸量が約4倍に増加。また、
乳酸が1 g/Lを超える高濃度で生産される。

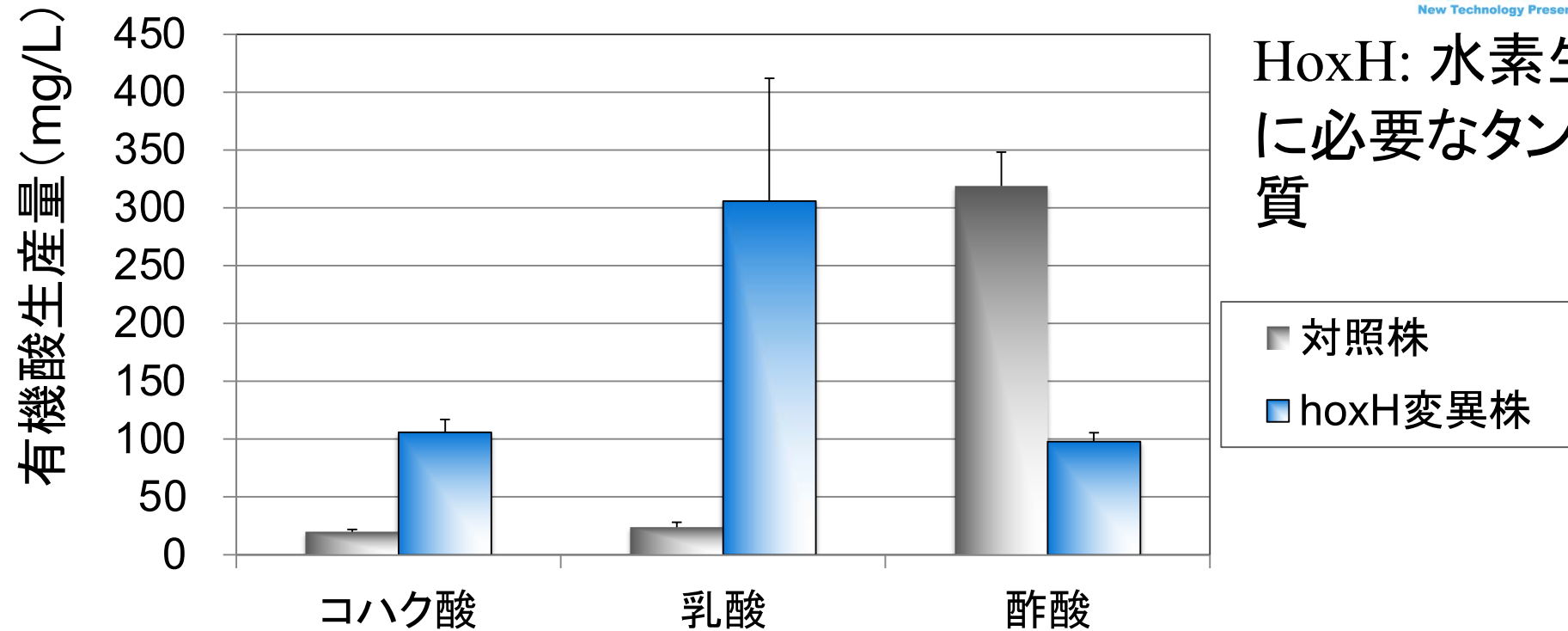
本技術に関する知的財産権③

- 発明の名称 : 有機酸の製造方法
- 特許番号 : 特許第6688497号
- 出願人 : 学校法人明治大学
- 発明者 : 小山内崇、飯嶋寛子

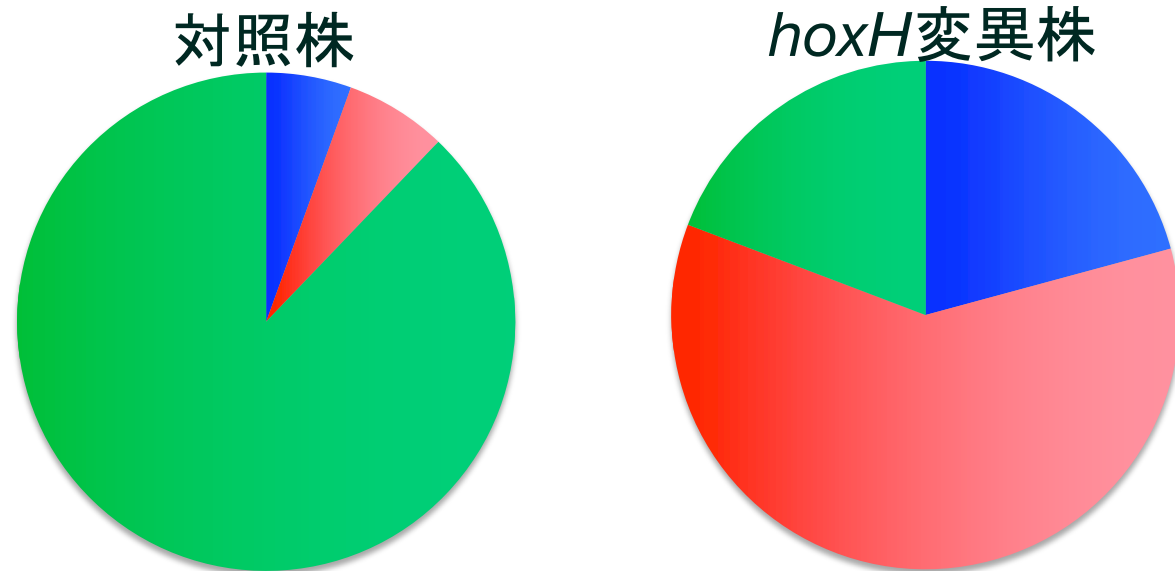
ラン藻の水素生産を抑えると、コハク酸・乳酸生産が増大

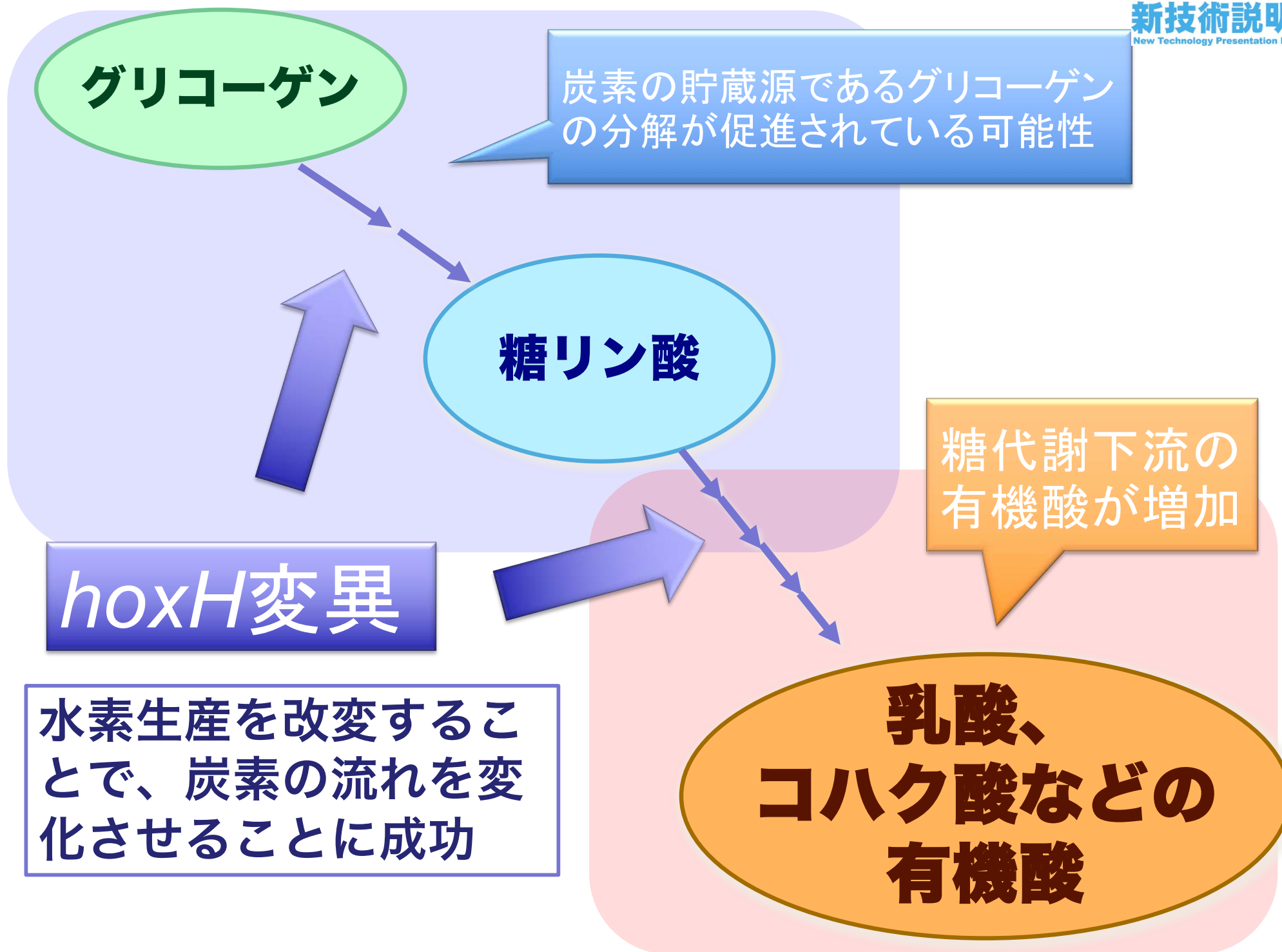
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

HoxH: 水素生産
に必要なタンパク
質



生産された
有機酸の割合
青: コハク酸
赤: 乳酸
緑: 酢酸







川崎市主催、Kawasaki Deep Tech Accelerator 2021採択！

- ビジネススクール通い（隔週土曜日10~17時）
- 起業メンターと相談
- 2022年1月に最終ピッチ

2021年度採択者一覧

会社名またはチーム名	事業テーマ	設立年月	申請者氏名
アラクノフォース株式会社	ワイヤ駆動型力覚提示デバイスの開発	2018年8月	本多 健二
革新的熱計測	感温塗料計測技術を用いた三次元熱計測システムの開発	設立前	安倍 悠朔
株式会社Thermalytica	産業・宇宙応用向け構造可変断熱材料・遮熱コーティング技術	2021年4月	小沼 和夫
シアノロジー	ラン藻による二酸化炭素を資源とした製品開発	設立前	小山内 崇



ABOUT ▼ DEMO DAY ▼ NEWS

AGRI TECH



アグリテックグランプリ2021



シアノロジー
【代表】小山内 崇



リバネス主催、アグリテックGP2021ファイナリスト
Real Tech Fund賞と視聴者投票第1位獲得

○ビジネスコンテストと継続的なメンタリング

2021年秋現在、5社と小山内研で研究契約などを締結

会社名(略称)	基礎研究	応用研究	製品開発・販売
ユーグレナ(2015-)	論文3報 特許出願3件、登録2件		
いであ(2017-)	ALCAチーム参画		
A社(2019-)	製品販売に向けて開発試験・顧客テスト中		
B社(2021-)	環境技術導入を目指して、製品開発を模索		
C社(2021-予定)	抗体の製造・受託販売		

その他、さまざまな企業と研究相談を随時行っています

企業への期待

- **スモールスタート**で、培養を始めてみて、初期ターゲットが思いつくかを議論
- 現代では、**環境技術の導入が必須**なので、**企業のブランド価値の向上**への寄与も含めて考える
- 同様の問い合わせが多いので、早めに決断していただいた企業の方を優先に共同研究を進める

お問い合わせ先

学校法人明治大学 生田研究知財部

TEL 044-934-7639

FAX 044-934-7917

e-mail ma19012@mics.meiji.ac.jp