



藻類育種・培養法検討に基づく新規オイル生産方法 の開発及び事業化に向けた展望

小山, 智己

(Degree)

博士 (科学技術イノベーション)

(Date of Degree)

2023-03-25

(Date of Publication)

2024-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8675号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100482423>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(別紙様式 3)

論文内容の要旨

氏 名 _____ 小山 智己 _____

専 攻 _____ 科学技術イノベーション _____

論文題目 (外国語の場合は, その和訳を併記すること。)

藻類育種・培養法検討に基づく新規オイル生産方法の開発及
び事業化に向けた展望

指導教員 _____ 蓮沼 誠久 教授 _____

(注) 2, 000 字～4, 000 字でまとめること。

人々は石油をはじめとした化石資源の利用によって文明を発展させてきた。一方、化石資源の使用時に生じる二酸化炭素によって地球温暖化問題を招いている。地球温暖化問題を解決する為には、大気中の二酸化炭素排出量を削減させる事が不可欠である。二酸化炭素排出量を削減させる為には、石油を代替可能かつ、環境負荷の少ない新たな資源の確立が急務とされている。植物・微細藻類・廃棄物等といったバイオマス資源由来オイルの利用は二酸化炭素排出量の削減が期待できる。この事から、バイオマス由来オイルは石油に代替する資源として注目を集めている。バイオマス由来オイルの中でも、筆者は微細藻類由来のオイルに着目し、先端科学技術研究、イノベーションアイデアの考案、イノベーションストラテジーの構築に取り組んできた。本論文では、筆者がこれまで行ってきた先端科学技術研究の成果及び研究成果をイノベーション創出に繋げるためのイノベーションストラテジー（事業戦略・技術戦略・知財戦略・財務戦略）について纏めている。

本論文は10章で構成され、各章の概要はそれぞれ以下の通りである。

【第1章 全体概要】

第1章では、科学技術上のブレイクスルーを応用したイノベーションアイデアについて述べた。筆者が提案するイノベーションアイデアは、細胞増殖とオイル生産を同時に可能な微細藻類変異株を用いた新規オイル製造技術を用いて製造したオイルを石油化学品原料であるナフサ、航空・熱生産用途向け燃料として利用普及させる事とした。

【第2章 背景・解決を目指す課題】

第2章では、第1章で述べたイノベーションアイデアを考案するに至った背景について纏めた。解決する社会的な課題を「大気中の二酸化炭素濃度の増加に伴う地球温暖化問題」と定義し、地球温暖化問題を解決する為に、石油を代替可能かつ環境負荷が少ないと言われているバイオマス資源由来のオイルを利活用する事とした。バイオマス資源由来のオイルの用途として、化学品原料であるナフサ、熱生産用途・航空用途向け燃料とした。

【第3章 微細藻類を用いたオイル生産の可能性と課題】

第3章では、微細藻類由来オイルの有用性を示すと共に商用利用に向けた課題を記載した。微細藻類由来オイルは第2章で述べた他のバイオマス資源である植物・廃棄物由来のオイルと比較して持続的な利用が可能である。しかし、「微細藻類の細胞増殖と細胞内オイル生産がトレードオフである」、「オイルを生産可能な窒素欠乏条件では細胞状態が悪化する」、「オイル生産藻類として有望視されている微細藻類は培養に貴重な淡水資源を使用する」等、微細藻類由来オイルの商用利用を実現する為には解決すべき課題がある。そこで本論文では、微細藻類からオイルを生産する上での課題を解決する為に、「海水を想定した条件かつ、窒素存在下・一段階でオイル生産可能な新規微細藻類由来オイルプロセスの開発」を目的とした。

【第4章: 科学技術上のブレイクスルー①: 窒素源存在下でオイルを高蓄積する微細藻類変異株の開発】

第3章で挙げた海水を想定した条件で微細藻類を培養し、窒素源存在下・一段階でオイル生産可能な培養プロセスを開発する為に、変異株の創出を行った。海洋性オイル生産藻類 *Chlamydomonas* sp. KOR1 株に対し、重イオンビームを照射する事で細胞集団にランダムな突然変異を導入・変異細胞集団を作製した。変異細胞集団を窒素源存在下で培養し、オイルを高蓄積している細胞を蛍光活性セルソーターで選抜する事で、窒素源存在下で乾燥重量あたり約20%のオイルを蓄積する KAC1710 株を獲得した。窒素源存在下でのオイル含有率を更に向上させる為に、KAC1710 株を用いて再度同様の育種を行った結果、窒素源存在下で乾燥重量あたり約30%のオイルを蓄積可能な KAC1801 株を獲得した。

【第5章: 科学技術上のブレイクスルー②: 窒素源存在下でオイルを高蓄積する微細藻類変異株を用いた一段階オイル製造方法の開発とオイル増産機構の解析】

第4章で獲得した有望株 KAC1801 株を用いた半連続培養方法を確立すると共に、KAC1801 株における窒素源存在下でのオイル増産機構を解析した。18.6 mM の硝酸塩を含む MB (Modified Bold) 12N 培地に海水塩を添加した培地を用い、24時間おきごとに、 $0.8\sim 0.9\text{ g L}^{-1}$ の乾燥細胞重量で継代培養した結果親株 KOR1 は乾燥重量あたり9%のオイルしか蓄積しなかったのに対し、KAC1801 株は乾燥重量あたり20%以上のオイルを継続的に蓄積した。窒素源存在下での半連続培養期間中においても KAC1801 株の細胞増殖や窒素消費は維持されており、研究目的である「海水を想定した条件かつ、窒素存在下・一段階でオイル生産可能な新規微細藻類由来オイルプロセスの開発」を達成した。メタボローム解析及びトランスクリプトーム解析によって KAC1801 株のオイル増産機構を解析した結果、光合成能の低下や窒素同化経路の強化といった典型的な微細藻類の窒素飢餓応答が発生した。本章では、半連続培養によって窒素源存在下・一段階の培養方法を確立したとともに、変異株におけるオイル増産機構に関する知見を提供した。

【第6章: 事業戦略】

第6章では、第4章・第5章で示した科学技術上のブレイクスルーを利用してどのような事業を行うかといった「事業戦略」を纏めている。本事業における事業戦略は、科学技術上のブレイクスルーを応用した技術パッケージ(育種, 屋外環境を想定した培養プロセス検討, オイル抽出残渣の活用法検討)提供, 受託研究, コンサルティングを行う「基盤技術開発・提供企業」を設立し、「微細藻類を用いたオイル(燃料・化学品用途)生産を目指している者」に対してサービスを実施する事である。サービス提供先は本事業から提供されたサービスを利用して製造体制を構築, オイルを製造し, 販売する事で社会的な価値を創出していく事とした。

【第7章: 技術戦略】

第7章では、第6章で述べた本事業にて提供する技術パッケージを開発する為の方針について述べた。本事業では、①. 屋外環境で簡易的にオイルを高生産可能な藻類変異株、②. 変異株を用いたベンチスケール培養方法、③. 変異株からオイルを抽出した後の残渣活用方法といった技術パッケージを開発・提供する。①. 変異株の開発に関しては、「変異育種」・「ゲノム編集」・「実験室進化(馴化)」といった3つの育種方法を駆使して、科学技術上のブレイクスルーのコンセプトである「海水を用いた一段階オイル生産」を実現するとともに、「屋外環境での培養に適した特徴」を付与していく。②. 培養プロセス検討に関しては、事前準備として微細藻類における過去の培養研究を網羅的に調査・リスト化しておく。その上で、培養戦略を立案し、実験室規模～ベンチスケール規模での培養方法を検討・確立していく。③. 残渣の活用方法は微細藻類の細胞内に含まれる成分の分析、分析結果で明らかになった成分の市場規模等を調査しておくことで、残渣の活用方法を提案できるようにしておく事とした。

【第8章: 知財戦略】

第8章では、第7章で述べた技術戦略にて開発した技術をどのようにして保護していくか、活用していくかといった知財戦略について纏めている。本事業における知財戦略として、①. 育種に関連する部分では、育種よって付与した特徴に寄与した遺伝子について特許を取得すると共に、育種方法についてはノウハウ化する。②. 培養方法についてはノウハウ化する。③. 残渣の活用方法についてはノウハウ化する。④. 本事業によって取得した知財をサービス提供先にライセンス、提携先利益の一部を本事業に還元する事とした。

【第9章: 財務戦略】

第9章では設立した「微細藻類基盤技術開発・提供企業」を運営していく上での財務戦略について述べている。本事業では、研究開発期間(創業1~2年)、他社との共同開発期間(創業3~6年)、オイル売上の回収期間(創業7年目~)を経て事業を売却する(創業10年目~)。研究開発期間における資金運営方法として、公的機関等から資金を調達し、自社技術の開発を実施していく。同時にコンサルティング等の実施により利益を挙げていく。共同開発期間では、事業会社との共同開発を実施する際に共同開発先からの出資を得る。同時に受託研究・コンサルティングを実施する事で利益を挙げて行く。オイルの売上回収期間では他社と共同で開発した技術を利用し、オイルを販売していく。この際、提携先利益から本事業で開発した技術パッケージの寄与度を本事業の利益として享受し、成長を加速させる。最終的には、事業会社に本事業を売却していく事とした。

【第10章: 全体総括】

第10章では、本論文における全体総括を記載した。

以上

氏名	小山 智己		
論文 題目	藻類育種・培養法検討に基づく新規オイル生産方法の開発及び事業化に向けた展望		
審査 委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教 授	蓮沼 誠久
	副 査	教 授	近藤 昭彦
	副 査	准教授	石川 周
	副 査	教 授	尾崎 弘之
要 旨			
<p>本研究では、先端科学技術研究において、海水を用いた一段階オイル生産微細藻類株の創出方法、微細藻類変異株及び変異株を用いた培養方法を開発し、それを応用してオイル製造を行うことで、石油由来燃料・石油化学品原料（ナフサ）を代替することをイノベーションアイデアとしたものである。</p> <p>本論文はバイオ燃料に関する全体概要、背景と問題解決を目指す上の課題、微細藻類を用いたオイル生産の可能性と課題、科学技術上のブレイクスルー（窒素源存在下でオイルを高蓄積する微細藻類変異株の開発、窒素源存在下でオイルを高蓄積する微細藻類変異株を用いた一段階オイル製造方法の開発とオイル増産機構の解析）、イノベーション創出に資する事業戦略、技術戦略、知財戦略、財務戦略と全体総括とからなる。</p> <p>これまで、微細藻類からオイルを生産する方法は栄養源が豊富な条件下で細胞を増殖させた後、栄養欠乏条件でオイルを蓄積させる二段階の培養工程が必要であったが、本研究では、窒素系栄養源が存在する環境でオイルを高生産する微細藻類を作出することに成功し、良好な細胞状態でのオイル生産を実現した。さらに、海水を想定した培地で培養を行うことで淡水資源に依存しない培養方法を確立した。このように、従来の微細藻類オイル生産法が抱える複数段階の培養工程、雑菌汚染リスクの増大、淡水資源の使用といった問題を解決し、効率的かつ持続的にバイオ燃料を生産する方法を構築することができた。微細藻類由来のオイルは原料が二酸化炭素であるため、石油由来オイルを代替することで地球温暖化抑制への効果が期待できる。また、将来的な微細藻類由来オイルの製造・普及への貢献も期待できる。</p> <p>先端研究成果は優れた学術的意義を有しており、イノベーションストラテジーの内容も充実している。本論文から小山氏は先端科学技術の研究開発能力とともに、知的財産化、生産技術開発、市場開拓までの学術的研究成果の事業化移行プロセスをデザインする能力を有しており、本研究化が輩出する博士人材の素養を有していると判断できる。</p> <p>提出された論文は科学技術イノベーション研究科学学位論文評価基準を満たしており、学位申請者の小山智己は、博士（科学技術イノベーション）の学位を得る資格があると認める。</p>			