

戦略的創造研究推進事業 C R E S T
研究領域「二酸化炭素排出抑制に資する
革新的技術の創出」
研究課題「海洋性藻類からのバイオエタノール
生産技術の開発」

研究終了報告書

研究期間 平成21年10月～平成27年3月

研究代表者：近藤 昭彦
(神戸大学大学院工学研究科、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

海洋や湖沼の水面を利用して閉鎖的に、また低コストで多細胞性のラン藻 *Arthrospira platensis* の大量育成・回収を行う手法の開発を行った。筏状に組んだ培養容器（合計 200 L レベル）を考案し、温帯域の淡路島・亜熱帯域の石垣島で屋外培養を行った。培養結果より温帯域では年間 1 ha あたり 19 t、亜熱帯域では年間 1 ha あたり約 31 t の藻体生産が可能であると推定された。トウモロコシの年間収穫量が 3-10 t であることから、*A. platensis* の藻体生産量が優れていることが確認された。藻体の回収は、32 μm のナイロンメッシュを斜面状に設置し、培養藻体を流下することで効果的に藻体と培養液が分離できた。また低コストに *A. platensis* を培養するために、培養液の検討を行い、海水培地では生育に阻害が見られたが、1/3 以下に希釈した海水培地では、最適培地と同様の増殖を示すことがわかった。また、培養空間を効率的に利用するために、*A. platensis* と異なる光波長帯を利用する *S. subsalsa* の特徴を生かした、*A. platensis*・*S. subsalsa* の重層（二層）培養法の検討を行った。その結果、*A. platensis* 培養液を透過した光で *S. subsalsa* を培養できることが明らかになった。

また *A. platensis* を種々の単色 LED 下で培養し、「培養光の波長」-「バイオマス量」-「励起エネルギー移動過程」の相関を検討した。その結果、(1) 同じ光量子数であれば、従来の白色光を用いた培養よりも、赤色光を用いた培養の方が、1.2 倍（白色 LED との比較）から 1.5 倍（蛍光灯との比較）高いバイオマスが得られること、(2) 青色光は励起エネルギー移動過程を阻害する方向に働くことなどの *A. platensis* 培養に関する重要な知見が得られた。

モデル藻類 *Synechocystis* sp. PCC 6803 株と実用藻類 *A. platensis* NIES-39 について、ゲノムスケール代謝モデルを構築し、代謝予測システムを開発した。構築した代謝モデルを用いた代謝予測結果は実験データと類似した結果を示し、代謝予測に用いることが可能であると示された。更に本代謝モデルを用いて、物質生産性を向上するための遺伝子破壊候補の抽出など代謝改変戦略を導出した。その結果、グリコーゲンの前駆体を供給する phosphoglucosylase 反応の活性化や、phosphoenolpyruvate carboxylase 反応 ($\text{PEP} \rightarrow \text{Oxa}$)、aconitate hydratase 反応 ($\text{Cit} \rightarrow \text{Icit}$)、isocitrate dehydrogenase 反応 ($\text{Icit} \rightarrow \alpha\text{KG}$) の活性の抑制がグリコーゲン生産性を向上することが予測された。

さらに常温常圧プラズマ (ARTP) を用いた変異導入法を検討した。その結果、ARTP による変異導入効率は従来法に比べ著しく高かった。また変異体のリシーケンスを行ったところ、多数のゲノム変異点が確認出来たことから、多細胞性の *A. platensis* に対しても有効であることが明らかとなった。この ARTP 変異導入法を用いて変異体バンクを作成し、野生株よりも炭水化物生産能、耐塩性が強化された変異体を得ることに成功した。

そして、*A. platensis* からのエタノール生産プロセスの開発を行った。グリコーゲンを資化できるアミラーゼ発現酵母を作出し、さらに細胞からのグリコーゲン抽出を促進する酵素を発酵上清に加える事により、*A. platensis* に前処理を加える事なく、高収率に藻類からエタノールを生産出来ることを明らかにした。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. システムバイオロジー技術の開発による藻類のマルチオミクス解析

概要：(200 字程度)

藻類のゲノムスケール代謝モデルを用いた代謝予測システム、代謝フラックス解析による細胞評価システムを開発し、さらにメタボローム解析やトランスクリプトーム解析を統合したシステムバイオロジー解析法を開発した。遺伝子発現量や代謝物量の変化より代謝フラックス量の変化は非常に大きいなど、トランスクリプトームやメタボロームなどから推測されてきた代謝の変化は、実際の代謝フラックス変化を必ずしも説明しないことが示され、代謝変化の議論には代謝フラックス解析が本質的に重要であることが示唆された。

2. アミラーゼ発現酵母による藻類からの直接エタノール生産プロセスの開発

従来のエタノール生産プロセスとは異なる，抽出・糖化・発酵を統合した新規のエタノール生産プロセスを開発し，提案した．グリコーゲンを資化できるアミラーゼ発現酵母を作出し，さらに細胞からのグリコーゲン抽出を促進する酵素を発酵上清に加える事により，前処理を加える事なく，高収率に藻類からエタノールを生産出来ることを明らかにした．

3. 液体窒素温度下での遅延蛍光の高感度測定

微弱な遅延蛍光をスペクトルとして観測することに成功し，2つの光化学系の結合状態の解析方法を確立した．従来の方法は着目する色素タンパク質複合体を単離するものであり，極一部の生物について極一部の研究者のみが利用可能であった．今回の方法は少量の試料を非破壊的に行うものであり，数多くの光合成生物を対象としストレス耐性の判定などに用いることができると期待される．

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 代謝予測システムと代謝フラックス解析技術の開発

概要：(200字程度)

開発したラン藻のゲノムスケール代謝モデルによる代謝モデリング技術により，代謝フラックス分布の予測や，目的物質の生産性を向上させるための候補遺伝子の抽出などの代謝設計が可能となった．また，¹³C代謝フラックス解析により，細胞の代謝フラックスを定量する技術を構築した．そして，代謝設計に基づいた細胞育種にも成功している．今後，更に代謝評価を繰り返すことで，物質生産性の向上に貢献できる．

2. 低コスト培養システムの開発

概要：(200字程度)

海面を利用した低コストの培養設備を用いて，陸側からの送気だけで，商業利用されているラン藻 *Arthrospira platensis* を低コストに高密度育成・回収する培養システムを開発した．

§2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

1. 「近藤昭彦」グループ (神戸大学)

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
近藤 昭彦	神戸大学大学院 工学研究科	教授	H21.10～H27.3
蓮沼 誠久	神戸大学 自然科学系先端融合 研究環	講師・准教授	H21.10～H24.9
蓮沼 誠久	同上	准教授	H26.4～H27.3
松田 史生	同上	准教授	H21.10～H24.9
藍川 晋平	神戸大学大学院 工学研究科	技術補佐員	H21.10～H22.3
藍川 晋平	同上	研究員 (ポスドク)	H22.4～H27.3
山田 亮祐	同上	D2～D3	H21.10～H23.3
三田 智也	同上	M1～M2	H21.10～H23.3
和泉 自泰	同上	研究員 (ポスドク)	H22.4～H24.3
加藤 寛子	同上	D1～D3	H22.4～H25.3
俣野 結城	同上	D2～D3	H23.4～H25.3
Ancy Joseph	同上	D2～D3	H24.4～H25.9
中西 昭仁	同上	研究員 (ポスドク)	H24.6～H25.3
阪本 貴俊	同上	D2	H25.4～H26.3
西田 篤実	同上	M1～M2	H24.4～H27.3
曾根辻 諒彦	同上	M 1	H26.4～H27.3
番場 崇弘	同上	D1	H26.4～H27.3
青木 智佳子	同上	技術補佐員	H25.4～H27.3

研究項目

- ・藻類のシステムバイオロジー解析
- ・微細藻類からの効率的バイオエタノール生産

2. 「清水浩」グループ (大阪大学)

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
清水 浩	大阪大学大学院 情報科学研究科	教授	H21.10～H27.3
古澤 力	同上	招聘教授	H21.10～H27.3
松田 史生	同上	准教授	H24.10～H27.3
平沢 敬	同上	助教	H21.10～H25.8
平沢 敬	東京工業大学大学院 生命理工学研究科	准教授	H25.9～H27.3
吉川 勝徳	大阪大学大学院	特任助教	H22.10～H25.8

	情報科学研究科		
吉川 勝徳	同上	助教	H25.9～H27.2
日高 佑紀	同上	特任技術職員	H22.4～H24.3
糸賀 達也	株式会社ハイテック	技術補佐員	H24.4～H27.3
仲嶋 翼	大阪大学 大学院情報科学研究科	M1～D3	H22.4～H27.3
小島 悠太	同上	M1～M2	H22.4～H24.3
梶島 秀一	同上	M2～D3	H23.4～H27.3
小川 健一	同上	M1～D2	H23.4～H27.3
大野 聡	同上	D1～D3	H24.4～H27.3
長廻 達也	同上	M2	H24.4～H25.3
入谷 大規	同上	M1～M2	H24.4～H26.3
岡橋 伸幸	同上	M1～D1	H24.4～H27.3
日浅 夏希	同上	M1～M2	H25.4～H27.3
生越 克典	同上	M1～M2	H25.4～H27.3

研究項目

- ・藻類のシステムバイオロジー解析と代謝モデリング

3. 邢新会グループ（清華大学）

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
邢 新会	清華大学化工系	教授	H21.10～H27.3
李 和平	清華大学工物系	准教授	H21.10～H27.3
張 翀	清華大学化工系	准教授	H21.10～H27.3
葛 楠	清華大学工物系	研究員 (ポスドク)	H21.10～H23.9
金 麗華	清華大学化工系	研究員 (ポスドク)	H22.1～H27.3
聂 秋月	清華大学工物系	研究員 (ポスドク)	H22.1～H25.12
方 明月	清華大学化工系	D1～D4	H23.4～H27.3
呉 希	清華大学化工系	D3～D4	H23.4～H25.3
張 雪	清華大学化工系	D2～D5	H23.4～H27.3
苏 楠	清華大学化工系	研究員 (ポスドク)	H24.4～H27.3
陳 韻億	清華大学化工系	M1～M3	H24.4～H27.3
王 志斌	清華大学工物系	D4～D5	H24.4～H25.6
常 海波	清華大学化工系	研究員 (ポスドク)	H25.1～H27.3
梁 偉凡	清華大学化工系	D3～D5	H25.3～H27.3
張 曉菲	清華大学工物系	D2～D4	H25.3～H27.3
王 成華	清華大学化工系	研究員 (ポスドク)	H26.4～H27.3

研究項目

- ・有用微細藻選抜に資する微細藻類新規ゲノム改変技術の開発

4. 「川井浩史」グループ（神戸大学）

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
川井 浩史	神戸大学 自然科学系先端融合研 究環 内海域環境教育 研究センター	教授	H21.10～H27.3
羽生田 岳昭	同上	助教	H21.10～H27.3
山岸 隆博	神戸大学 自然科学系先端融合研 究環 重点研究部	特命助教	H21.10～H27.3
豊島 正和	神戸大学 自然科学系先端融合研 究環 内海域環境教育 研究センター	研究員 (ポスドク)	H22.4～H26.7
寺内 真	神戸大学 自然科学系先端融合研 究環 内海域環境教育 研究センター	研究員 (ポスドク)	H26.7～H26.12
小谷 朋子	神戸大学 自然科学系先端融合研 究環 内海域環境教育 研究センター	技術補佐員	H24.7～H26.3
橋本 貴太	神戸大学大学院 理学研究科	M1～M2	H22.4～H23.3

研究項目

- ・海水環境における高増殖・高密度培養の技術開発
- ・形質転換技術の開発

5. 「三宅親弘」グループ（神戸大学）

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
三宅 親弘	神戸大学大学院 農学研究科	准教授	H21.10～H27.03
林 良太	同上	B3～M2	H21.10～H25.3
清水 聡子	同上	B3～B4	H22.10～H25.3
嶋川 銀河	同上	B3～M2	H23.10～H27.3
釋 啓一郎	同上	B3～M1	H24.10～H27.3

研究項目

- ・酸素への電子伝達反応の制御

- ・光化学系 I での循環的電子伝達反応の制御

6. 「秋本誠志」グループ（神戸大学）

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
秋本 誠志	神戸大学自然科学系先端融合研究環分子フォトサイエンス研究センター	准教授	H21.10～H27.3
横野 牧生	同上	研究員 (ポスドク)	H24.4～H25.3
植野 嘉文	神戸大学大学院理学研究科	M1	H26.4～H27.3
大西 亜弥	同上	M1	H26.4～H27.3
勅使河原 彩香	同上	B4～M2	H22.10～H25.3
神戸 えりな	同上	M1～M2	H23.4～H25.3
山本 亜美	同上	M1～M2	H25.1～H26.3
仁木 健太	同上	B4～M2	H24.4～H26.3
多田 愛	同上	M1～M2	H21.10～H23.3
濱田 文哉	同上	B4～M2	H21.10～H24.3
崔 錫宇	同上	B4	H21.10～H22.3

研究項目

- ・微細藻の光エネルギー捕集機能の評価と強化

7. 「張嘉修」グループ（成功大学）

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
Jo-Shu Chang	國立成功大學化學工程系	教授	H24.4～H27.3
Chun-Yen Chen	同上	博士研究員 (ポスドク)	H24.4～H27.3
Jia-Huei Wang	同上	技術補佐員	H26.4～H27.3
Pin-Chen Liao	同上	M1	H26.4～H27.3
Yu-Mei Shen	同上	技術補佐員	H26.4～H27.3
Hsin-Yueh Chang	同上	技術補佐員	H24.4～H27.3
Chuan-Lin Hsu	同上	技術補佐員	H26.4～H27.3
Hsiao-Chen Huang	同上	M1	H26.4～H27.3

研究項目

- ・高炭水化物生産能を有する微細藻種の単離と大量培養法の確立

§3 研究実施内容及び成果

研究項目：1. 海水環境における高増殖・高密度培養の技術開発
(川井グループ, 張グループ)

1-1) 海上環境での高増殖および高密度培養法の確立 (川井グループ)

浮体式培養装置の考案と野外育成実験

海洋や湖沼の水面を利用して閉鎖的に、また低コストで多細胞性のラン藻 *Arthrospira platensis* の大量育成・回収を行う手法の開発を目的として、透明なプラスチック製の培養容器(培養セル)を筏状に組んで水面に浮かべる浮体式培養装置を考案し、作製した(図1-1)。10 Lおよび20 Lのポリエチレン(PE), または20 Lのポリカーボネート(PC)容器を8-9個、塩ビ製の枠に筏状に固定し浮きを付けて水面に浮かべ、陸地に設置したエアポンプから給気し、培養液に曝気した。密閉した培養セルに給気・加圧することで培養筏や個々の培養セルを陸地に回収せず、培地の交換、藻体を含む培養液の回収する方法を検討した。陸地側からの空気給気により培養セル内を加圧する培養液の回収では(図1-1 c), 20 L培養容器では5分程度で陸地においた回収容器への移送が可能であった。

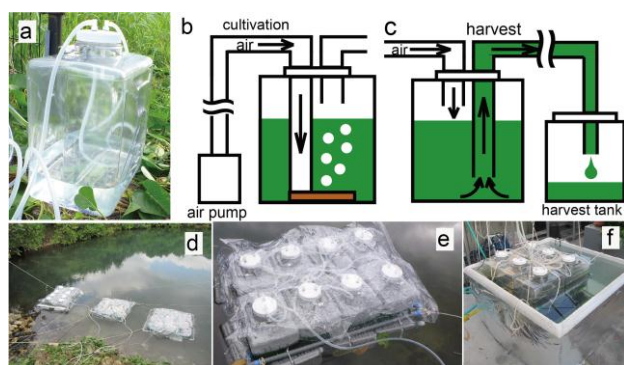


図1-1 石垣島(熱帯水産研究センター)屋外沈殿池及び神戸大・温室での培養実験。(a) PC容器による培養セル, (b) 空気導入による曝気, (c) 送気による培養液の回収, (d) 培養筏の設置状況, (e) PC培養セルによる筏, (f) 温室における培養実験。

多糖類・カルシウム化合物を含む凝集剤(日本ポリグル: PGα21Ca)を用いて藻類を凝集させ、培養液のみ交換または藻体のみ回収する方法を検討した結果、0.2-0.8 g L⁻¹程度の濃度に凝集剤を添加することで、藻体を1/10程度に凝集・沈殿させることができ、沈殿した藻体分画だけを選択的に回収できることを確認した(図1-2 a, b)。また、最終的な藻体の回収は、目開き32 μmのナイロンメッシュを斜面状に設置し、培養藻体を流下することで効果的に藻体と培養液が分離できることが示された(図1-2 c, d)。

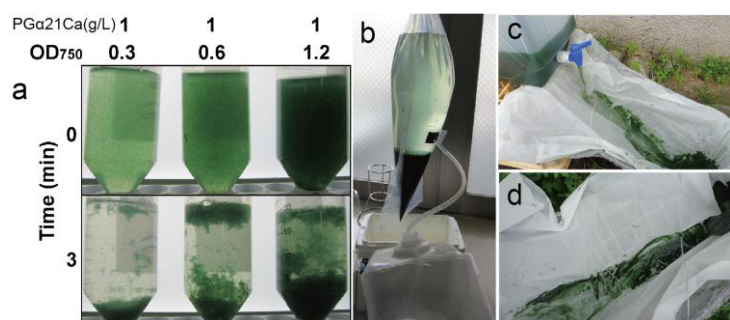


図1-2 高分子凝集剤を用いた凝集とナイロンメッシュによる回収。(a) 培養に1 g L⁻¹の凝集剤添加3分後の凝集状況, (b) 凝集した藻体を残し培養液の上清部分を回収, (c), (d) ナイロンメッシュ濾過による連続回収。

屋外育成実験は、淡路島(温帯域: 神戸大学・屋外水槽, 2010年7-8月, 9-11月; 2011年8-9月)および石垣島(亜熱帯域: 西海区水研・海水池, 2011年9-10月, 2012年2-3月)において行った。また安定した温度条件下で培養液などの検討を行うため、温室(温帯域: 神戸市・神戸大学理学部, 2013年8-9月; 10-11月; 2014年1-2月; 3月)内に温度制御可能な水槽を設置し、屋外と同様の浮体式培養装置(PC培養セル6個の筏)で実験を行い、

期間中の水温・日照量を連続測定した。

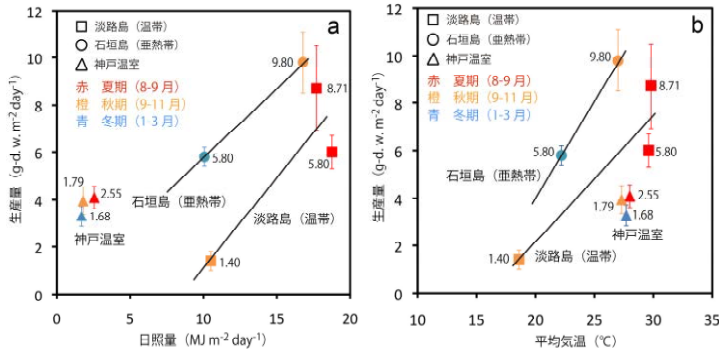


図1-3 温帯，亜熱帯域および温室における育成実験。(a) 日照量とバイオマスの相関グラフ，(b) 温度とバイオマスの相関グラフ。マーカーのバーは標準偏差を示す。

その結果，標準的な SOT 培地を用いた実験（淡路島夏季）では，最終細胞濁度は実験室内と同程度の最大(OD₇₅₀)=1.4 であり，2011 年 8 月-9 月の実験では，培養終了時の細胞濁度は OD₇₅₀=1.16 ± 0.17，乾燥藻体重量は 8.43 ± 1.73 g であった。この結果から，この実験施設の環境での 1 日 1 m²あたりの藻体生産量は約 8.7 g (8.7 gDW m⁻² day⁻¹)と推定した(図 1-3)。一方，石垣島では 1 日 1 m²あたりの藻体生産量は 9-10 月の実験では 9.80 g dry weight m⁻² day⁻¹，2-3 月の実験では約 5.8 g dry weight m⁻²であった。これらの結果から，亜熱帯域では夏季には一日あたり 1m²あたり，11.1-12.3 g，周年では 8.5 g（年間 1 ha あたり約 31 t）程度の，また温帯域では夏季には 8.7-9.5 g，周年では 5.0 g（年間 1 ha あたり約 19 t）の藻体生産が可能であると推定した。石垣，淡路島，神戸温室で実施した育成実験から，本培養装置を用いた *A. platensis* の生育は日照量および水温と正の相関が確認され(図 1-3)，両条件が好適な亜熱帯域での海面（20-30℃）での培養で安定して高いバイオマス生産が見られることが確認された。

屋外培養では SOT 培地を 1/4 に希釈しても，希釈しないものと同等の生育速度が見られた(図 1-4 a-c)。一方，希釈しない海水にキレート鉄と硝酸ナトリウムを添加した培地では，生育に阻害が見られたが，1/4~1/3 に希釈した海水にキレート鉄と硝酸ナトリウムを添加した培地では SOT 培地とほぼ同等の生育速度がみられた(図 1-4 d)。一方，希釈培地中への CO₂ 添加した空気曝気した場合，CO₂ による pH 低下により成長量が低下することから，十分量の空気だけの曝気とその成長に大きな差はみとめられなかった。また希釈海水培地では最終的な藻体濁度は SOT 培地より低かったが回収藻体の重量から推定したバイオマス量はほぼ同等か高くなり，またグリコーゲン含量が高いとの結果が得られた。

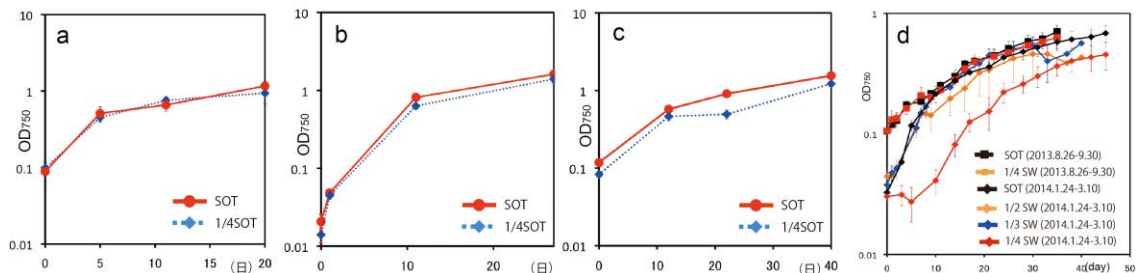


図 1-4 淡路島・屋外水槽，石垣島・海水池及び神戸大・温室水槽での希釈 SOT 培地での育成。(a) 淡路島(2011 年 8-9 月)，(b) 石垣島 (2012 年 9-10 月)，(c) 石垣島 (2012 年 2-3 月)，(d) 神戸大・温室。

Arthrospira subsalsa 新奇株の単離と単藻化・無菌化の試み

淡路島から新たに海産底生ラン藻 *Spirulina subsalsa* の新奇株 AW-1 株を単離しその成長特性を調べると共に大量培養，*A. platensis* との積層培養を試みた。しかし，*S. subsalsa* は単

藻化（無菌化）すると成長しなくなるため、その原因を明らかにするため、混生する細菌叢を変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（DGGE）で解析するとともに、培養実験から *S. subsalsa* の安定培養には *Limnobacter* sp. を含む細菌の共存が必要であると考察した。また、基質に付着して生育する本種の効率的な培養法を検討し、積層型フラスコや透析チューブを用いた培養法を考案した（図1-5）。これらの培養実験では最大約 $5.5 \text{ g-d.w. m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ のバイオマス量が得られたが、無菌（単藻）ではないため、培養結果は安定しなかった。温室内水槽での *S. subsalsa* と *A. platensis* の2層培養実験では（図1-5 b, c）、*A. platensis* 培養液を透過した光で *S. subsalsa* を培養することができたが、得られたバイオマス量は低く、一日あたり $0.02 \text{ g-dry weight m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ であった。

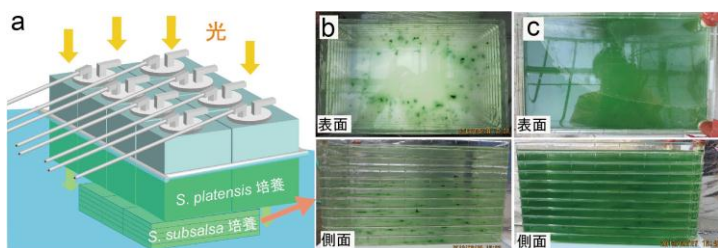


図1-5 *S. subsalsa* の積層培養実験 (a) 実験室内での育成実験. (b), (c) 温室内水槽 (*A. platensis* 培養タンクの下部に設置. (b) 実験開始時, (c) 培養4週後).

1-2) 高炭水化物生産能を有する微細藻類種の単離と大量培養法の確立 (張グループ)

台湾南部から緑藻 *Scenedesmus obliquus* CNW-N を単離した（図1-6）。そして初期植菌量が *S. obliquus* CNW-N の炭水化物生産速度に及ぼす影響を調べた。1~3.4 g L^{-1} の細胞密度で、*S. obliquus* CNW-N を植菌し、4 g L^{-1} まで培養し、再び初期植菌濃度（1~3.4 g L^{-1} ）まで希釈し、4 g L^{-1} まで培養を繰り返した（図1-7）。その結果、2.0 g L^{-1} の初期植菌量で炭水化物生産量は $0.47 \text{ g L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ となり、植菌量の最適化により炭水化物生産量を向上させることに成功した（表1-1）。

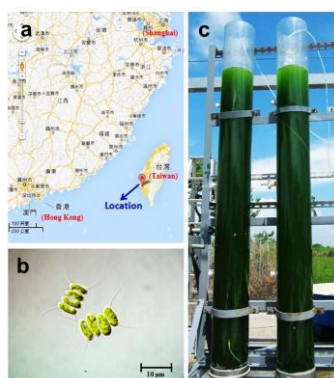


図1-6 (a) サンプリング地点, (b) *S. obliquus* CNW-N の顕微鏡写真, (c) 屋外大量培養装置.

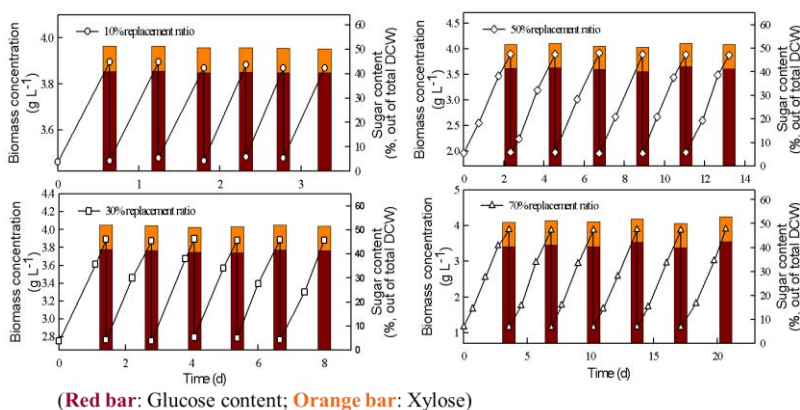


図1-7 初期植菌量が *S. obliquus* CNW-N の炭水化物生産速度に及ぼす影響.

表1-1 異なる初期植菌濃度でのバイオマス生産・炭水化物生産.

Inoculation biomass conc. (g L ⁻¹)	Biomass productivity (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	CO ₂ fixation rate (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Carbohydrate content (% out of total DCW)	Carbohydrate productivity (mg L ⁻¹ d ⁻¹)
3.4	746.1 ± 66.1	1305.6 ± 115.6	50.72 ± 0.42	378.2 ± 31.5
2.8	838.3 ± 30.7	1467.0 ± 53.7	51.66 ± 0.38	433.0 ± 13.8
2.0	883.8 ± 32.9	1546.7 ± 57.5	52.88 ± 1.88	467.6 ± 29.2
1.0	792.6 ± 22.3	1387.0 ± 39.1	51.19 ± 1.73	405.8 ± 20.6

また、温度や太陽光強度の季節変動が *S. obliqua* CNW-N のバイオマス生産量および炭水化物生産速度に及ぼす影響を調べた。本研究では屋外環境で *S. obliqua* CNW-N を 50 L の Photo bioreactor で、2.5% CO₂ を含む空気を 0.06 vvm で供給し、1 年を通して培養した。図 1-8 に示したように、水温、太陽光強度が季節変動し、水温、光強度の低下に伴ってバイオマス生産量および炭水化物生産速度が低下することが明らかとなった。

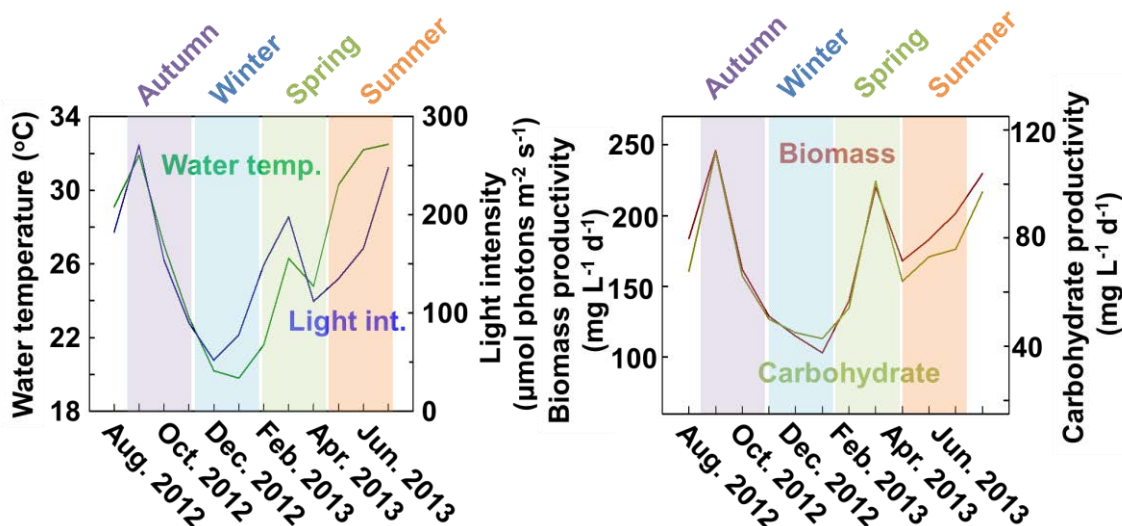


図1-8 屋外環境と *S. obliquus* CNW-N のバイオマス生産速度および炭水化物生産速度

研究項目：2. 有用微細藻選抜に資する微細藻類新規ゲノム改変技術の開発 (清華大学 邢グループ)

2-1) 微細藻遺伝子変異操作条件の確立

常温常圧プラズマ (ARTP) 育種装置の物理特性を明らかにするために、プラズマ発生過程を解析した。その結果、ARTP 育種装置は均一性の高いプラズマを発生しており、遺伝子変異の主要因子が活性的粒子であることがわかった。また、SOS 応答による生細胞の遺伝子損傷と Fluctuation テスト法による世代ごとの変異率評価手法を確立し、ARTP が細胞の遺伝子に与える損傷強度と変異速度との関係を調べた。その結果、ARTP の変異導入効率が従来の変異方法より著しく高いことが明らかとなった (図 2-1)。

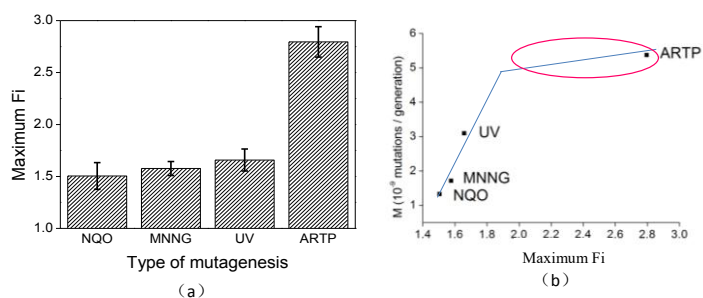


図2-1 ARTPと従来の変異方法の(a)遺伝子損傷強度及び(b)遺伝子損傷と変異率との関係。MaximumFiは最大遺伝子損傷因子を表す。

2-2) 変異体のハイスループットスクリーニング方法の確立

増殖能力を指標としたマイクロプレートを用いて、ARTPで変異した*A. platensis*変異体のハイスループットスクリーニング方法を確立した(図2-2)。野生株の増殖速度より20%以上変化した変異率を総変異率、20%以上上昇した変異率を正変異率と定義すると、継代培養7回目以降の総変異率と正変異率はそれぞれ45%と25%に達した(図2-3)。これらの結果から、多細胞である*A. platensis*に対してもARTP変異法は有効であり、微藻類の遺伝子を効率よく改変できることが明らかとなった。

2-3) 微細藻類の変異体バンクの構築

上述したARTP変異とハイスループットスクリーニング方法によって、62個変異体を安定的に培養できた変異体バンクを構築した。32.3%の変異体の炭水化合物含量が野生株より20%以上上昇し、12.9%の変異体の凝集能力が野生株より100%以上上昇した(図2-4)。そして、代表的な変異株(3-A10, 3-B2, 4-B3)を選び、リシーケンスを行った結果、多数のゲノム変異点を確認出来た(表2-1)。

また同様に、増殖速度、耐塩性、炭水化合物含量を指標として、海水環境下で増殖できるARTP変異体のライブラリーも構築した。

現在、神戸大学近藤グループとの共同研究にて、変異体と野生株についてメタボローム解析及びトランスクリプトーム解析を行い、微藻類の耐塩性変異機構を解析しているところである。

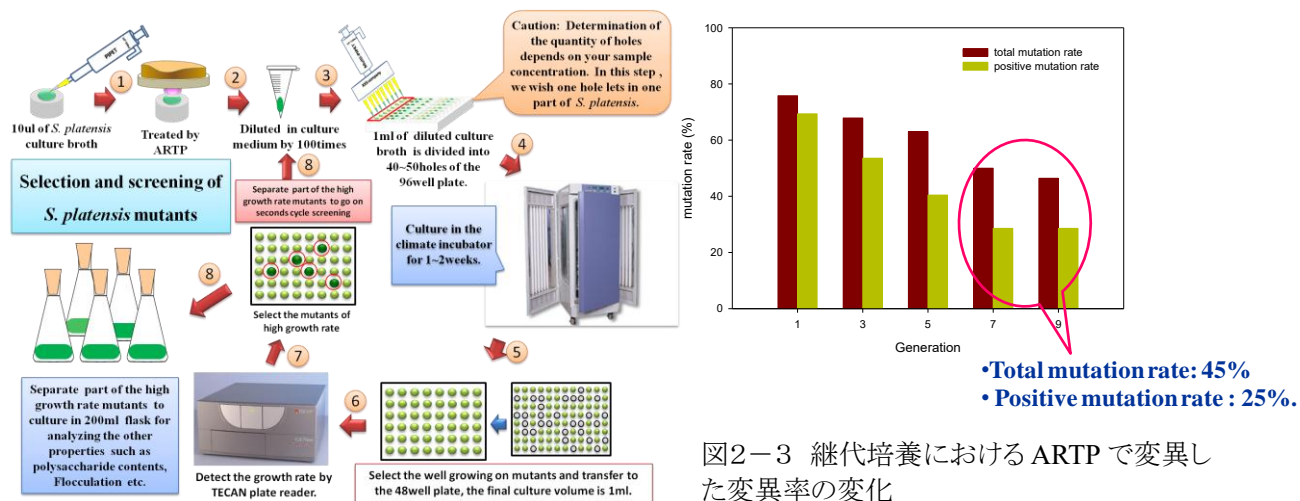


図2-3 継代培養におけるARTPで変異した変異率の変化

図2-2 ARTPによる微藻類の変異操作及びハイスループットスクリーニング

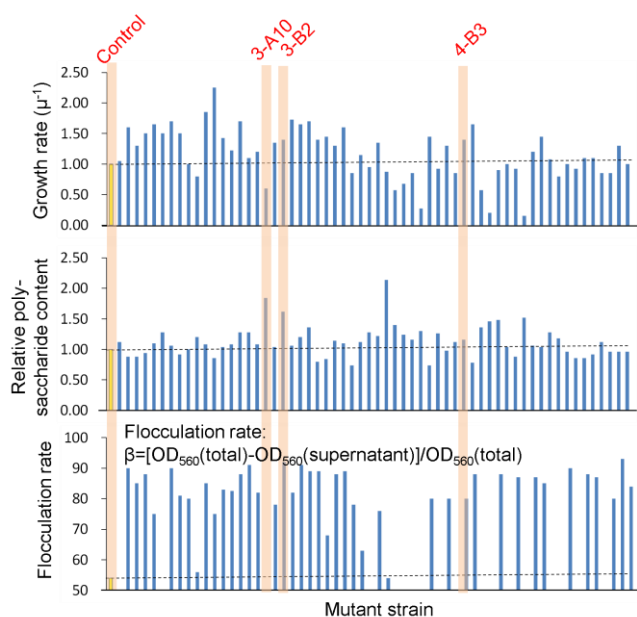


図2-4 ARTPにより得られた *A. platensis* 変異株の表現型

表2-1 代表的変異体と野生株のリシークエンス結果.

Variation	Control	3-A10	3-B2	4-B3
SNP	239423	239424	237828	239447
SNP compare filter Control	-	2912	2330	2934
Non-synonymous SNP filtered Control	-	1033	839	1044
DIP	7916	7895	7789	7911
DIP compare filter Control	-	443	458	464
Non-synonymous DIP filtered Control	-	232	210	232

SNP: Single Nucleotide polymorphisms
 DIP: Inserts and deletes nucleotides from a sequence
 Non-synonymous SNP: SNP with altered amino acids

研究項目：3. 藻類のシステムバイオロジー解析と代謝モデリング（清水グループ，近藤グループ）

3-1) 微細藻の網羅的代謝プロファイリング（近藤グループ）

A. platensis の代謝中間物質の正確な内生量を実測するために，細胞のクエンチング（代謝反応停止）や脱塩方法を検討し，微細藻の代謝プロファイリングに適したサンプル前処理法を確立した．また，水溶性代謝中間物質と光合成色素を網羅的に測定するためにキャピラリー電気泳動/質量分析系（CE/TOFMS），および超高速液体クロマトグラフィー/質量分析系（UPLC/QTOFMS）を構築した．本分析システムを用いて，*A. platensis* 抽出物から解糖系，カルビン回路，TCA 回路，アミノ酸合成経路，光合成色素など 173 種の代謝物の定量に成功し，網羅性を伴った代謝プロファイリングが可能となった（図 3-1）．

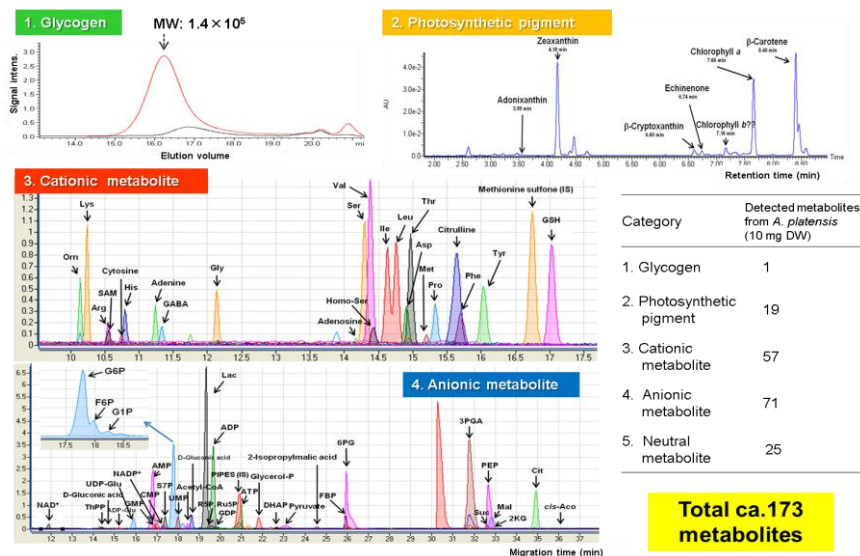


図3-1
サイズ排除クロマトや
CE/TOFMS, UPLC・
QTOFMS による代謝物
質の網羅的解析

3-2) 微細藻の代謝予測モデルの構築 (清水グループ)

モデル微細藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 株と実用藻類 *Arthrospira platensis* NIES-39 について、ゲノムスケール代謝モデルを構築し、代謝予測システムを開発した。構築した代謝モデルを用いた代謝予測結果は実験データと類似した結果を示し、代謝予測に用いることが可能であると示された。更に本代謝モデルを用いて、物質生産性を向上するための遺伝子破壊候補の抽出など代謝改変戦略を導出した。

まず代謝情報が整備されている *Synechocystis* sp. PCC 6803 株について、ゲノム情報や KEGG などのデータベース、文献情報に基づき 493 の代謝反応と 465 の代謝物質からなる代謝モデルを構築した (論文 10)。構築した代謝モデルを用いた代謝予測結果を検証するため、計算で求めた代謝フラックス分布と、項目 3-4 で開発した ^{13}C 標識グルコースや ^{13}C 標識炭酸塩を用いて実験的に求めた代謝フラックス分布の比較を行った。その結果、代謝モデルにより予測された代謝フラックス分布は、従属栄養条件 (グルコースのみを炭素源)、混合栄養条件 (光合成による CO_2 固定とグルコースの双方を炭素源)、独立栄養条件 (光合成による CO_2 固定のみを炭素源) において実験的に得られた代謝フラックス分布と良い相関を示すことが見出された (図 3-2)。このことより、本代謝モデルは、実際の代謝状態を予測できるプラットフォームとして利用可能となった。

さらに、実用藻類 *A. platensis* NIES-39 について、746 の代謝反応と 673 の代謝物質からなるゲノムスケール代謝モデルを構築した。代謝モデルの予測結果を評価するために、14 種類の有機炭素源について各炭素源を単一炭素源とした従属栄養条件において増殖の可否が実験的に解析された結果と、代謝予測による増殖の可否を比較した。その結果、14 種類中 11 種類の有機炭素源について、実験結果と同様の増殖の可否を示した。また、独立栄養条件と従属栄養条件下における増殖速度についても、代謝予測結果は実験結果と類似した結果を示した。以上より、構築した *A. platensis* NIES-39 の代謝モデルは代謝予測に利用可能であることが示唆された。本株は窒素源取り込み制限下においてグリコーゲンを蓄積するが (項目 6-1)、代謝予測においてもグリコーゲンの蓄積が実証された。さらに、代謝予測の結果、窒素源制限下では、グリコーゲン以外に酢酸、乳酸、ピルビン酸などを生産する可能性が予測された。実際に、実験的にも窒素源制限下では、それらの物質の生産が確認さ

れた。構築した *Synechocystis* sp. PCC 6803 と *A. platensis* NIES 39 株の代謝モデルを用いてグリコーゲンやエタノール等の有用物質を生産する際の代謝律速点となり得る代謝反応について遺伝子破壊シミュレーションなどを行い、代謝改変対象の代謝反応を抽出した (項目 3-4)。

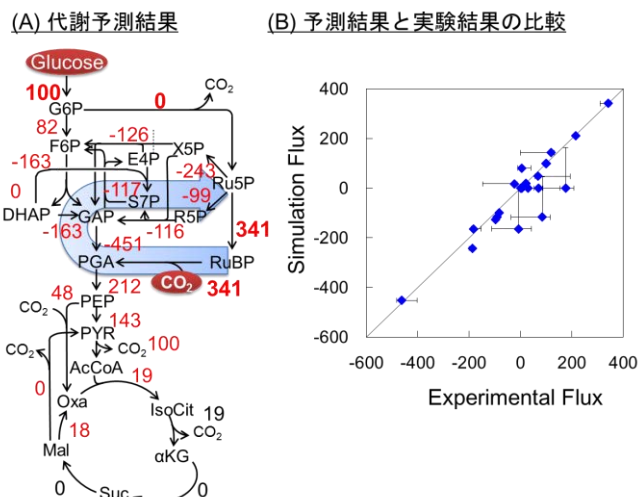


図3-2 *Synechocystis* sp. PCC 6803 株のゲノムスケール代謝モデルを用いた代謝フラックスの予測と評価。(A) グルコースと光合成により固定した二酸化炭素を炭素源とする混合栄養条件における代謝フラックスの予測結果。値は、グルコースの取込み速度を100に規格化した代謝フラックス (mmol/g-DCW/h) を示す。(B) 代謝フラックスの予測結果と実験結果の比較。各点がある代謝反応の代謝フラックスの値を示す。

3-3) 微細藻の代謝フラックス解析 (清水グループ)

微細藻類の代謝状態を評価するシステムとして、中枢代謝経路の代謝の流れ (代謝フラックス) を実験的に解析する代謝フラックス解析手法を開発し、独立栄養条件、従属栄養条件、混合栄養条件において代謝フラックス解析を行った。更に、メタボロームとトランスクリプトームのデータを統合したシステムバイオロジー解析により代謝制御について詳細に解析した。代謝物質濃度や遺伝子発現量の変化により代謝フラックスの変化が予測されることがあるが、それらの結果が一致しない場合があることを明らかとし、代謝の理解には代謝フラックス解析がより重要であることが示唆された。

Synechocystis sp. PCC 6803 を用い、¹³C 標識炭酸塩を用いた独立栄養条件の代謝フラックス解析手法を開発した。まず、代謝反応における炭素移動を記述するために、コンピュータ上で *Synechocystis* sp. PCC 6803 の中枢代謝経路の代謝反応を炭素原子レベルで記述する原子マッピングアルゴリズムを開発した。次に、*Synechocystis* sp. PCC 6803 株を独立栄養条件で培養し、対数増殖期に ¹³C 標識炭酸塩を培地に添加した。その後の細胞内代謝物質の ¹³C 標識割合 (¹³C 濃縮度) の経時変化を測定するため、最短 30 秒間隔でサンプリングし細胞内代謝物質を抽出する実験システムを開発した。本実験では、1 分間隔でサンプリングし、細胞内の代謝中間体物質の ¹³C 濃縮度をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) やキャピラリー電気泳動質量分析計 (CE/TOF-MS)、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) を用いて測定した。得られた ¹³C 濃縮度の経時変化の情報と、開発した原子マッピングアルゴリズムにより求めた中枢代謝経路の炭素原子レベルの移動情報、測定した細胞内代謝物質濃度より、代謝フラックスを求めた (図 3-3)。代謝フラックス解析の結果、カルビン回路の代謝フラックスは大きく、酸化的ペントースリン酸経路の代謝フラックスは非常に小さいことが示唆された。これらの結果は、これまでの知見と一致しており、独立栄養条件下の代謝フラックス解析手法の開発に成功した。

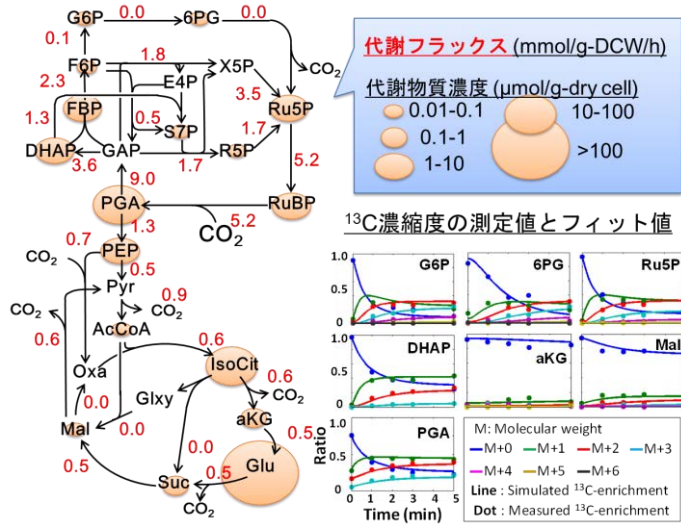


図3-3 独立栄養条件の代謝フラックス解析結果. 代謝経路の赤字は代謝フラックスの計算結果 (mmol/g-DCW/h) を, 代謝物質の丸の大きさはその代謝物質の細胞内濃度を示す. ¹³C濃縮度の測定値とフィット値は, 炭酸を添加した後の ¹³Cの各代謝物質の ¹³C濃縮度の経時変化を示す. 0 minにおいて, 培地に ¹³C標識炭酸塩を添加した後, 各測定物質の質量数 M の割合が低下し, ¹³C標識で標識された質量数が高い代謝物質の割合が増加した.

微細藻類の代謝制御を理解するために, 両条件における代謝フラックス解析結果とトランスクリプトームやメタボロームの情報を統合したシステムバイオロジー解析を行った (論文 47, 48). その結果, 遺伝子発現量や代謝物質濃度の変化は比較的小さいにも関わらず, 培養条件間で代謝フラックスは大きく変化した (図 3-5). このことより, 両条件間の代謝フラックスの変化は遺伝子発現量の変化より, フィードバック阻害などの翻訳後の制御の影響が大きいことが示唆された. 遺伝子発現量や代謝物質濃度の増減に基づき代謝フラックスの変化が議論されることがある. しかし, 例えば RuBisCO が関与する反応の近傍では (図 3-4 の Ru5P → RuBP, RuBP → 3PG の反応), 代謝フラックスは 2 条件間で大きく変化した, 代謝物質 (Ru5P, RuBP, 3PG) の濃度に変化はみられず, 代謝物質濃度が顕著に変化していなくても代謝フラックスに差がある状況が存在することがわかった. このように, メタボロームやトランスクリプトームの情報のみでは代謝フラックスの変化を議論することが難しい場合があり, 代謝状態を知るためには, 代謝フラックス解析を行うことがより重要であることが示された.

3-4) 代謝律速点の決定 (清水グループ)

微細藻類を用いたグリコーゲンなどの物質生産や, 培養環境の変化に対する代謝変化の律速となる代謝反応を, ゲノムスケール代謝モデルによる代謝予測システムや, 代謝フラックス解析とマルチオミクスデータを統合したシステムバイオロジー解析により抽出した.

項目 3-2 で開発した *A. platensis* NIES 39 と *Synechocystis* sp. PCC 6803 の代謝モデルを用いて, 独立栄養条件による二酸化炭素からのエタノール生産について, 多重遺伝子破壊シミュレーションにより生産性を向上する破壊対象遺伝子を抽出した. その結果, 呼吸鎖に関する NAD(P)H dehydrogenase と cytochrome-c oxidase をコードする遺伝子の破壊が生産性を向上することが予測された. 実際に *Synechocystis* sp. PCC 6803 株でエタノール生産株を構築し, NAD(P)H dehydrogenase を破壊した株で効果を検証した結果, エタノール生産性が向上し, 代謝予測システムにもとづく代謝律速点の実証に成功した.

さらに, *A. platensis* NIES 39 の代謝モデルを用いてグリコーゲン生産性の向上に向けた代

代謝改変戦略の導出を行った。フラックスレスポンス解析により発現抑制や過剰発現による各反応の代謝フラックスの増減がグリコーゲン生産性に与える影響を予測した。その結果、グリコーゲンの前駆体を供給する phosphoglucomutase 反応の活性化や、phosphoenolpyruvate carboxylase 反応 (PEP → Oxa), aconitate hydratase 反応 (Cit → Icit), isocitrate dehydrogenase 反応 (Icit → aKG) の活性の抑制がグリコーゲン生産性を向上することが予測された (図3-6)。

(A) 代謝フラックス解析結果

(B) 各代謝フラックスの信頼区間

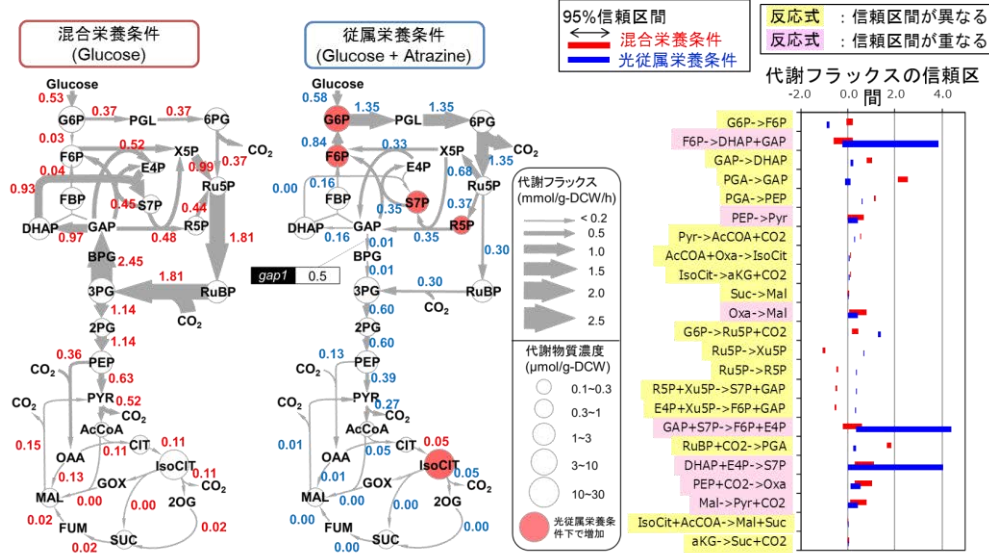


図3-4 代謝フラックス, メタボローム, トランスクリプトームの統合解析結果. (A) 代謝フラックス結果. 赤・青文字は代謝フラックスの値 (mmol/g-DCW/h) を, 各代謝物質の丸の大きさは図中の凡例に示す代謝物質濃度を示す. 赤色の丸は, 従属栄養条件において混合栄養条件と比較し有意に濃度が増加した代謝物質を示す (t 検定, $p < 0.05$). トランスクリプトーム情報は, 2 条件間で 2 倍以上発現量が変化した遺伝子のみ図中に示した. (B) 各代謝フラックスの信頼区間.

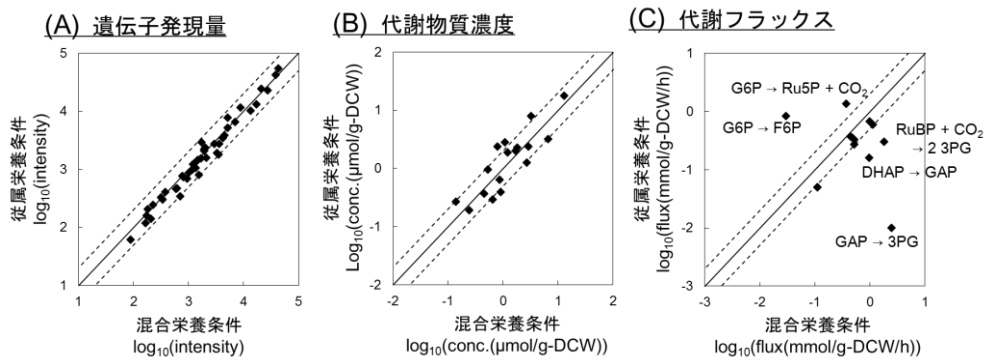


図3-5 中枢代謝経路に関するトランスクリプトーム(A), メタボローム(B), 代謝フラックス(C)の変化. 点線は2倍の変化を示す.

項目3-3に記載した, 従属栄養条件と混合栄養条件の代謝フラックス解析, トランスクリプトーム解析, メタボローム解析結果を統合したシステムバイオロジー解析により, 両条件の代謝状態を制御する因子として, *gap1* 遺伝子を抽出した. 両条件下で中枢代謝経路の代謝フラックス分布が大きく変化したのに対して, トランスクリプトーム解析結果では *gap1* のみ発現量の変化が見られ, 代謝フラックスの変化の原因になったと推測された. *gap1* は Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase をコードし, Glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) を 1,3-bisphosphoglycerate (BPG) に変換する. 従属栄養条件における *gap1* の発現量の低下は, GAP から BPG への代謝フラックスを減少させ, その結果, 本反応より上流に位置する代謝物質 (G6P, F6P) の蓄積量を増加し, 酸化的ペントースリン酸経路への代謝フラックスを増加したと推測される (論文 27, 47).

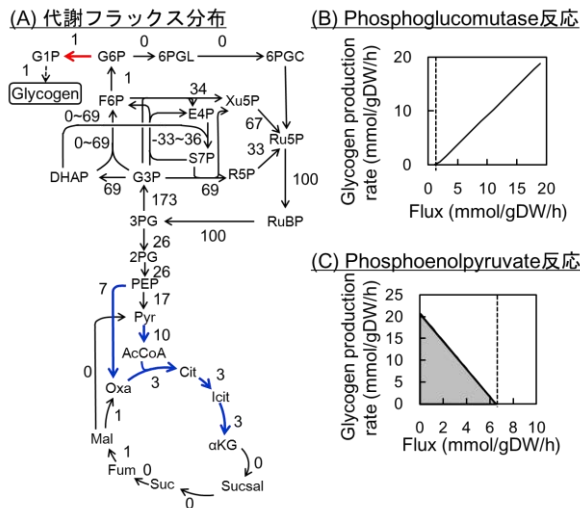


図3-6 代謝予測に基づくグリコーゲン生産性向上への代謝改変戦略の導出.

(A) *A. platensis* の独立栄養条件下における代謝フラックス分布の予測結果と改変対象の代謝反応. 代謝フラックスは RuBisCO の代謝フラックスの値で正規化した. 赤矢印と青矢印はそれぞれ, フラックスの増加 (遺伝子過剰発現), 減少 (発現抑制) によりグリコーゲン生産性の増加が予測された代謝反応を示す. (B) phosphoglucomutase 反応 (G6P→G1P), (C) phosphoenolpyruvate carboxylase reaction (PEP→Oxa) のフラックスレスポンス解析結果. 横軸は対応する反応のフラックス, 縦軸はグリコーゲン生産フラックスを示す. 点線は増殖速度最大時(A)の対応する反応のフラックスの値を示す. 灰色の領域は, 解が不定となる領域を示す.

研究項目：4. 微細藻への遺伝子導入技術の開発 (川井グループ)

形質転換技術の開発

A. platensis (NIES-39 株) では安定的な形質転換系が確立されていないが, 本株の全ゲノム配列解析により 8 個の制限酵素を有することが報告された. これは *A. platensis* は, これらの制限酵素に対応する DNA メチラーゼを持つことで自己ゲノム DNA を防御していると考えられるが, 新たに導入された遺伝子は容易に酵素分解されることを示しており, 本種における遺伝子の導入を阻む主要な要因となっていると考えられる. そこで, 安定的な形質転換系の確立には, 導入遺伝子の *A. platensis* 内在性メチラーゼによるメチル化が必須であると考え, 本研究では, *A. platensis* 内在性組換えメチラーゼを用いた導入遺伝子の高度メチル化を行うことで安定的な形質転換技術を確認することを目指した. しかし, その後の研究から, 新たに 2 個の制限酵素の存在が推定され, 本研究でもゲノムの再検討を行った結果, さらに 2 個の存在が推定された. そこで, これらの制限酵素にも対応することを目指して, 11 個のメチラーゼの組換えタンパク質による導入遺伝子のメチル化を試みた.

形質転換体の選択に有効な抗生物質の探索

形質転換体の選択に使用する抗生物質を検討し, 顕著な増殖抑制が示されたクロラムフェニコール, ストレプトマイシン, スペクチノマイシン, エリスロマイシンを予備的に選定し, 低濃度 ($0.1-2.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) のスペクチノマイシン条件下での培養実験から 0.25 または $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ スペクチノマイシンによる選択が適当であると結論した.

A. platensis 細胞に導入する GFP 発現コンストラクトの作製

レポーター遺伝子として Green Fluorescent Protein (GFP) を採用し、2 種類の GFP 発現コンストラクトを作製した (図 4-1 A)。GFP 遺伝子は、*A. platensis* のルビスコ (*rbcL*) 遺伝子のプロモーター (推定領域) の下流に組み込んだ。pKUT1121-PrbcLG を保持する大腸菌および自然形質転換法により導入した *Synechocystis* sp. PCC 6803 株では、GFP の緑色蛍光が見られたことから、GFP 発現コンストラクトが機能していることを確認した。

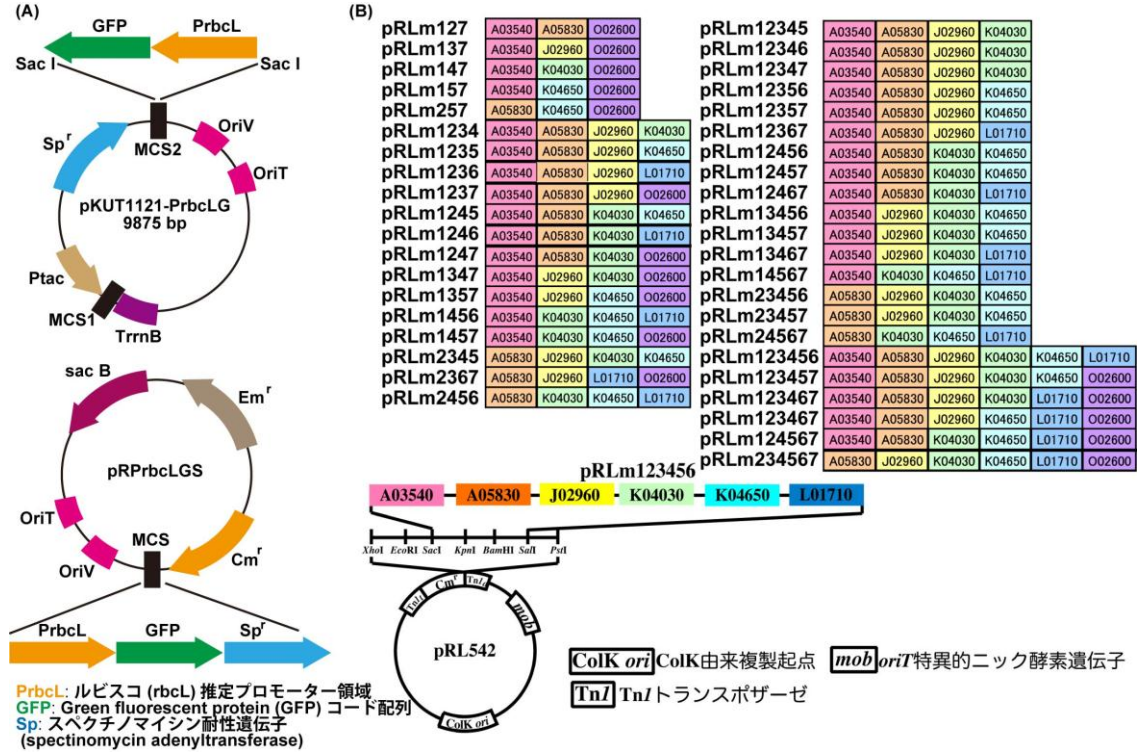


図 4-1 本研究で作製したコンストラクト(A) GFP 発現コンストラクト、(B) 様々な組み合わせのメチラーゼをコードするメチラーゼ発現コンストラクト。

A. platensis NIES-39 の組換えメチラーゼ発現コンストラクトの作製

次に、GFP 発現コンストラクトの高度メチル化を目指し、様々な組換えメチラーゼ発現コンストラクトを作製した。*A. platensis* ゲノムで推定された 11 個のメチラーゼについて、様々な組み合わせの 3-7 個のメチラーゼ遺伝子 (図 4-1 B) および 11 個のメチラーゼ遺伝子を組み込んだメチラーゼ過剰発現コンストラクトを作製した (図 4-2 A, B)。これらのコンストラクトのいずれかと GFP 発現コンストラクト (pRPrbcLGS または pKUT1121-PrbcLG) を大腸菌内で共存させて GFP 発現コンストラクトをメチル化した後に、接合法またはエレクトロポレーション法により *A. platensis* への遺伝子導入を試みた。導入の際は細胞壁多糖類の除去、超音波処理による *A. platensis* の断片化などの前処理、詳細な導入条件検討を行っているが、現時点で導入を確認できていない。

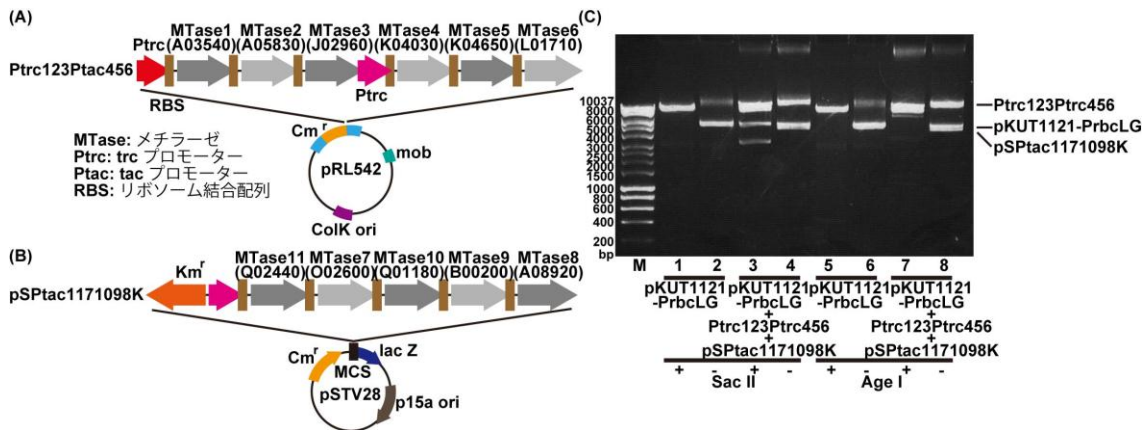


図4-2 組換えメチラーゼ過剰発現コンストラクトによるメチル化. (A) 6個のメチラーゼ, (B) 5個のメチラーゼをコードしている. (C) pKUT1121-PrbcLG の制限酵素処理. Ptrc123Ptrc456, pKUT1121-PrbcL, pSPtac1171098K を保持する大腸菌株および pKUT1121-PrbcL のみを保持する大腸菌株からプラスミド DNA を抽出し, 280 ng の DNA を基質として各制限酵素を用いて 37°C で 1 時間処理した (レーン+) レーン-: 酵素なし (コントロール).

GFP 発現コンストラクト pKUT1121-PrbcLG のメチル化状態の検証

形質転換体が得られない原因として, GFP 発現コンストラクトのメチル化が不十分である可能性を想定し, GFP 発現コンストラクト (pKUT1121-PrbcLG, 以下 pKUT と呼ぶ) とメチラーゼ発現コンストラクト (Ptrc123Ptrc456 および pSPtac1171098K) を保持する大腸菌株についてバイサルファイトシーケンス解析を行った. その結果, *A. platensis* で機能既知のメチラーゼ 5 の認識配列 (CTGCAG) では, メチル化がほとんど起こっていないことが示された. また, 上記大腸菌株から抽出したプラスミド DNA に制限酵素処理を行った結果, 一部の酵素では消化が抑制されていたが, 完全に消化されたものも見られた (図4-2C). このことから, 一部のプラスミド DNA はメチル化されているが, メチル化されていない物もあることが示された. 限定的メチル化の原因を検証するため, 転写レベル (RT-PCR), 翻訳レベル (SDS-PAGE) の発現解析を行った結果, RT-PCR ではメチラーゼ cDNA 増幅産物が検出されたのに対して, SDS-PAGE では, 過剰発現したメチラーゼのバンドは見られなかった. このため, 翻訳レベルの何らかの問題によりメチラーゼの発現が不十分であり, pKUT の十分なメチル化に必要な量のメチラーゼが供給されていない可能性が高いと考えている. メチラーゼの翻訳を強化するため, リボソーム結合配列 (RBS) の配列・位置の再検討や, T7 プロモーターを持ち, 強力かつ厳密に発現を誘導できる市販の発現ベクターおよび大腸菌株を用いてメチラーゼの大量発現を試みる. また, 各メチラーゼは大腸菌のレアコドンで 7-11% コードしているため, それらのレアコドンに対応した大腸菌株を用いて発現量が改善するかを検証することも考えている.

研究項目: 5. 海水で大量増殖するエネルギー高生産性微細藻類の創出 (近藤グループ, 三宅グループ, 秋本グループ)

5-1) 微細藻の光エネルギー捕集機能の評価と強化 (秋本グループ)

微細藻の光エネルギー捕集機能の評価を行い, 大量培養に向けての問題点を明らかにするとともに, 機能強化を目指す.

微細藻をパルスレーザーで光励起した後, 微細藻の光化学系を構成する各色素から発せられる蛍光の強度変化を時間の関数として観測することにより, エネルギー移動過程・電子移動過程を検討する. 特に, (i) フィコエリスリン→フィコシアニン→アロフィコシアニン→クロロフィルのエネルギー移動効率の検討, (ii) エネルギートラップとなる色素の同定

と過剰エネルギー失活過程の検討, (iii) 反応中心における電子移動過程の検討, を行う。(i)-(iii)によって得られる結果と秋本らが所有する他の光合成生物に関するデータを比較することにより, 微細藻に特徴付けられる光エネルギー捕集機能を明らかにし, 大量培養に向けての問題点を考察する。

ラン藻 *A. platensis*, *S. subsalsa*, *Synechococcus* sp. PCC 7942, *Synechococcus* sp. PCC 73109, *Synechocystis* sp. PCC 6803 について, フィコビリゾーム内エネルギー移動, フィコビルン・クロロフィル間エネルギー移動, クロロフィル間エネルギー移動を解析した。*Synechococcus* の色素系と比較し, *A. platensis* や *S. subsalsa* の色素系は光化学系 I と光化学系 II との間でエネルギーを分配する能力に優れていること, *A. platensis* には励起状態寿命の長い低エネルギークロロフィルを有すること, 等がわかった。

クロロフィル *b* を持つ特異なラン藻 3 種 *Prochloron*, *Prochlorococcus*, *Prochlorothrix* (いずれも天然に存在, *Prochlorococcus* はジビニルクロロフィル型) (論文 9, 19), および, 変異によりクロロフィル *b* やジビニルクロロフィルが導入されたラン藻の光合成初期過程について解析を行い, ラン藻の色素系にクロロフィル *a* とは異なるクロロフィルを導入することの利点および問題点を検討した。ラン藻に取り込まれたクロロフィル *b* やジビニルクロロフィルはアンテナ色素として機能することがわかった。クロロフィル *b* が導入されたラン藻 *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 の光化学系 I におけるエネルギー移動過程について解析を行った。ラン藻の光化学系 I においてもクロロフィル *b* がアンテナ色素として機能することが明らかとなった (論文 42)。ただし, 変異により反応中心にジビニルクロロフィルを導入した場合, 光傷害を回避するためにアミノ酸も置き換える必要があることが判明した (論文 17)。

光化学系 I-光化学系 II 間のエネルギー分配と含有フィコビルン量との相関を検討した。フィコエリスリンをもつ紅藻では, フィコエリスリンの含有量が増すと光化学系 II から光化学系 I へのエネルギー移動が促進された (論文 8)。一方, フィコエリスリンを持たない *A. platensis* では, 光化学系 I-光化学系 II 間のエネルギー分配と含有フィコビルン量との間に相関は見られなかった (論文 24)。変異により *A. platensis* のフィコビルン組成を変化させても, 光化学系 I-光化学系 II のエネルギー分配には影響を及ぼさないことが予想される。

A. platensis を種々の単色 LED 下で培養し, 「培養光の波長」-「バイオマス量」-「励起エネルギー移動過程」の相関を検討した。*A. platensis* 培養に関する重要な知見として, (1) 同じ光量子数であれば, 従来の白色光を用いた培養よりも, 赤色光を用いた培養の方が, 1.2 倍 (白色 LED との比較) から 1.5 倍 (蛍光灯との比較) 高いバイオマスが得られること, (2) 青色光は励起エネルギー移動過程を阻害する方向に働くこと, (3) 光質によりカロテノイドやフィコビルンの相対含有量を変化させることができること, が得られた (図 5-1) (論文 18)。*A. platensis* と同様の色素組成を持つ微細藻の一種, 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* についても同様の検討を行った。培養光の光質により, *C. merolae* の色素相対含有量は変化した, が, バイオマス量は大きくは変化しなかった。構成する色素が同じであるにも関わらず, ラン藻と紅藻では, 光環境適応能力が異なることが示唆された (論文 59)。

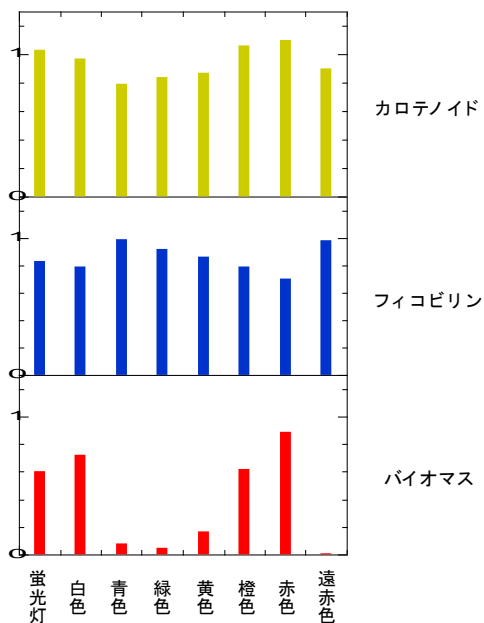


図5-1 蛍光灯や種々の LED で培養した *A. platensis* におけるカロテノイド、フィコビリソーム、バイオマスの生産量の比較. カロテノイド、フィコビリソームは、各光源下におけるクロロフィル量に対する相対値を示し、バイオマスについては、絶対値 (OD₇₅₀) を示している。

異なる光質の LED を用いて、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 に強光 (500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を短時間 (5 分間) 照射したときの応答を検討した。光照射によりフィコビリソームや光化学系 II の励起状態寿命は短くなったが、光化学系 I の寿命は変化しなかった。また、光照射により、光化学系 II から光化学系 I へのエネルギー移動量が増加した。強光下では、光化学系 I にエネルギーを伝達することにより、強光ストレスを回避していることが示唆された (論文 41)。

培地に含まれるイオン量とエネルギー移動過程の相関を検討した。カルシウムの欠乏により、フィコビリソーム内のエネルギー移動が阻害された (論文 16)。ラン藻 *A. platensis* (論文 25) やラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 (論文 57) を海水培地で培養すると、(1) フィコビリソームの形成が阻害されること、(2) 低エネルギークロロフィルの相対量が減少すること、(3) 光化学系間のエネルギー移動が阻害されること、(4) 光合成速度が減少すること、がわかった。*Synechococcus* sp. PCC 7002 については、硝酸イオンとリン酸イオンが光化学系やバイオマス生産量に及ぼす影響を検討した。海水培地に硝酸イオンを加えることにより、バイオマス生産量が最適培地中と同程度に回復した。ただし、光化学系 I と光化学系 II との相互作用が弱くなり、強光耐性が失われることが予想される結果が得られた。また、対照生物として、窒素固定能力を持つラン藻 *Anabaena variabilis* の窒素欠乏下での光合成能力を検討した (論文 58)。

ラン藻と共存して培養が可能な微細藻について検討した。ラン藻 *A. platensis* 等は緑色を吸収する色素を持たず、530~550 nm の波長領域に吸収スペクトルの極小を持つ。そこで、カロテノイドの一種であるフコキサンチンを持ち、500~550 nm の光を吸収することが可能な微細藻 *Chaetoceros gracilis* の光エネルギー捕集能力について検討した (論文 23, 43, 45)。微細藻 *C. gracilis* が持つ色素タンパク質複合体中では、フコキサンチンは 2 種のエネルギー型 (500 nm 近辺に吸収ピークを持つタイプと 530 nm 近辺に吸収ピークを持つタイプ) を示した。そのうち、530 nm 近辺に吸収ピークを持つフコキサンチンは高い効率でクロロフィルにエネルギー移動をすること、すなわち、微細藻 *C. gracilis* が効率よく緑色を光合成に利用できることがわかった。また、クロロフィル *f* を持つ特異的なラン藻 *Halomicronema hongdechloris* の光エネルギー捕集能力を検討した (論文 44, 56)。赤外光を光合成に利用しており、*A. platensis* のような可視光を利用する典型的なラン藻と共存して培養が可能であることが示唆された。

5-2) 光合成電子伝達系の制御によるATP供給能の強化 (三宅グループ)

ラン藻でのオルタナティブ・エレクトロン・フロー活性強化、および、ラン藻での光合成活性制御メカニズムの解析を行った。

5-3) 塩水環境での大量繁殖能の付与 (近藤グループ)

塩濃度がラン藻のグリコーゲン生産に及ぼす影響

海洋性ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 は幅広い塩濃度で生育できる。本ラン藻種を用いて、塩濃度がラン藻のグリコーゲン生産量に及ぼす影響を調べた。まず項目 4. 3. 8 と同様に *Synechococcus* sp. PCC 7002 の最適な培養条件を検討した。その結果、2%CO₂, 600 μmol photons m⁻² s⁻¹ で増殖速度が著しく向上することがわかった。そして、異なる塩濃度の海水 (塩濃度 4%)・汽水 (2.7%)・淡水 (0.3%) 環境下で窒素源投与量の変化が細胞増殖およびグリコーゲン含有率に及ぼす影響を調べた (図 5-2 a, b, c)。全ての塩濃度環境で硝酸塩投与量の低下によって、バイオマス生産量が低下、グリコーゲン含有率が増加した。それぞれのバイオマス生産量とグリコーゲン含有率の積から、各条件下でのグリコーゲン生産量を算出した (図 5-2 d)。その結果、海水や汽水環境に比べて、淡水環境では細胞増殖の阻害によって、グリコーゲン生産量が著しく低下した。一方、海水と汽水環境下の細胞増殖・グリコーゲン含有率はほぼ同程度であり、それぞれ最大 3.0 g L⁻¹ と 3.5 g L⁻¹ のグリコーゲンが生産できた (論文 46)。これらの生産量はこれまでに報告されている微細藻類のグリコーゲン (あるいはデンプン) 生産で最も高い値であった。

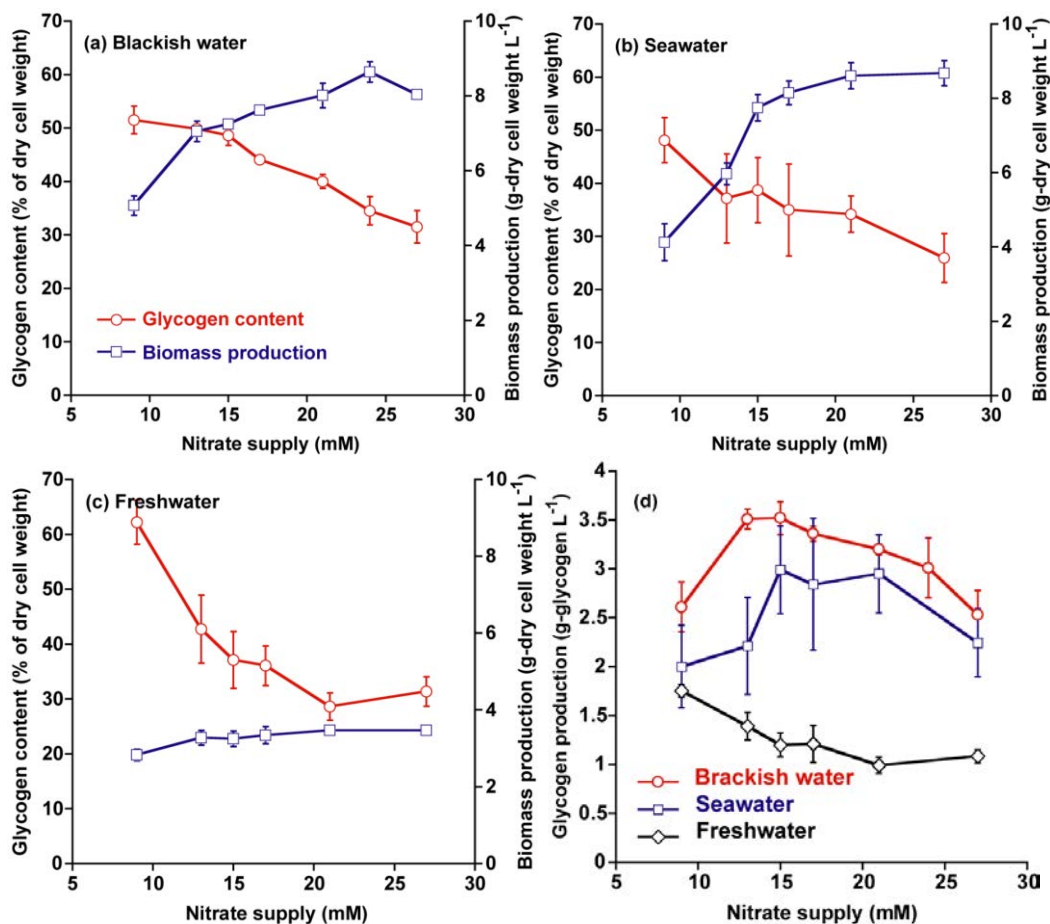


図5-2 汽水(a), 海水(b), 淡水(c)条件における硝酸塩濃度がバイオマス生産量・グリコーゲン含有率に及ぼす影響. (d)汽水・海水・淡水条件での硝酸塩濃度がグリコーゲン生産量に及ぼす影響.

研究項目：6. 海水で大量増殖するエネルギー高生産性微細藻類の創出 (近藤グループ)

6-1) ラン藻細胞のグリコーゲン生産能を向上させる培養条件の選定

A. platensis のグリコーゲン生産量を向上させるために SOT 培地中、30°C、24 時間明期条件下で培養光強度を 20, 50, 100, 270, 700 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、硝酸塩投与量を 0, 1, 3, 30 mM と変え、グリコーゲン生産に最適な培養条件を調べた。培養光強度を 700 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、硝酸塩投与量を 3 mM に調整したことで、*A. platensis* のバイオマス生産量が 1.6 g L^{-1} 、グリコーゲン含有率が 60% と共に増加し、3.5 日間のグリコーゲン生産量が 1 g L^{-1} に向上した(図 6-1)。これらの培養条件の最適化によって、細胞増殖を損なうことなく、グリコーゲン含有率を向上させることに成功した(論文 20)。

6-2) エタノール生産プロセスの開発

A. platensis 細胞内からのグリコーゲン抽出に効果的な抽出法の検討を行った。その結果 30% KOH および卵白由来のリゾチームによる抽出が効率よくグリコーゲンを抽出することがわかった(図 6-2)。特にリゾチームによる抽出は 30%KOH のように加熱する必要がないため、酵母の表層にリゾチームを提示させることで抽出に必要なコストを大幅に削減できると考えられる。

次に、リゾチーム存在下で *A. platensis* を炭素源とし、*Streptococcus bovis* 由来の α アミラ

ーゼと *Rhizopus oryzae* 由来のグルコアミラーゼを発現させた酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて、エタノール生産を行った。その結果、前処理を加えていない 200 g wet cell weight の *A. platensis* (13 g L^{-1} のグリコーゲンに相当する) から直接エタノールを生産することに成功した (図6-3)。従来のプロセスでは抽出・糖化に熱酸処理, 細胞破碎処理, アミラーゼ添加などが必要であったが, 抽出・糖化・発酵を統合した新規の生産プロセスを開発できた (論文 36)。

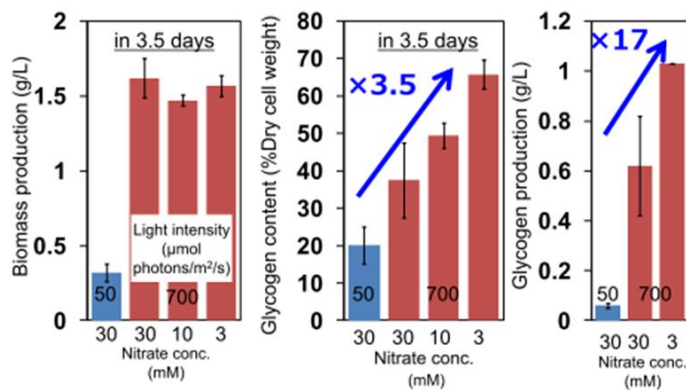


図6-1 各培養条件下での *A. platensis* のバイオマス生産量, 乾燥重量あたりのグリコーゲン含有量, グリコーゲン生産量

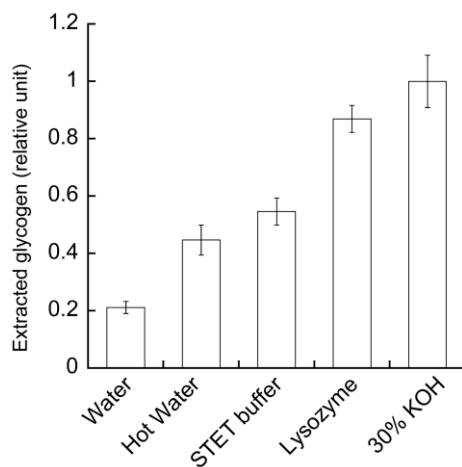


図6-2 *A. platensis* からのグリコーゲン抽出法の検討
30%KOHで抽出されたグリコーゲン量をもとに各抽出方法により抽出されたグリコーゲン量を評価した。

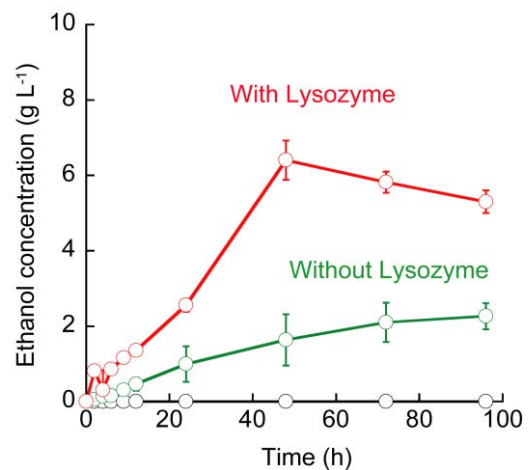


図6-3 *A. platensis* からのエタノール生産
リゾチーム存在下で高グリコーゲン含有 *A. platensis* (60% of dry-cell weight) を炭素源としたエタノール生産 (赤), リゾチーム非存在下で高グリコーゲン含有 *A. platensis* を炭素源としたエタノール生産 (緑)。

§4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内 (和文) 誌 4 件、国際 (欧文) 誌 59 件)

(国内)

1. 金丽华, 方明月, 张翀, 蒋培霞, 葛楠, 李和平, 邢新会, 包成玉, “常压室温等离子体快速诱变产油酵母的条件及其突变株的特性研究”, 生物工程学报, 27, 461-467 (2011)
2. 李和平, 王志斌, 乐沛思, 葛楠, 包成玉, “平板型与同轴型等离子体发生器射频大气压辉光放电特性分析”, 高电压技术, 38, 1588-1594 (2012)
3. 金锋, 焉迪, 王志斌, 李和平, 葛楠, 包成玉, “大气压射频辉光放电阻抗特性的实验研究”, 高电压技术, 39, 1596-1601 (2013)
4. 张雪, 张晓菲, 王立言, 张翀, 陈韵亿, 常海波, 李和平, 邢新会, “常压室温等离子体生物诱变育种及其应用研究进展”, 化工学报, 65, 2676-2684 (2014)

(国際)

1. Tomohisa Hasunuma, Kazuo Harada, Shinichi Miyazawa, Akihiko Kondo, Eiichi Fukusaki, Chikahiro Miyake, “Metabolic turnover analysis by a combination of in vivo ¹³C-labelling from ¹³CO₂ and metabolic profiling with CE-MS/MS reveals rate-limiting steps of the C3 photosynthetic pathway in *Nicotiana tabacum* leaves”, *Journal of Experimental Botany*, 61, 1041-1051 (2010) (DOI: 10.1093/jxb/erp374)
2. Chikahiro Miyake, “Alternative electron flow (Water-Water Cycle and Cyclic Electron Flow around PSI) in photosynthesis: Molecular mechanisms and physiological functions”, *Plant and Cell Physiology*, 51, 1951-1963 (2010) (DOI: 10.1093/pcp/pcq173)
3. Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, Chikahiro Miyake, “Metabolic Engineering by Plastid Transformation as a Strategy to Modulate Isoprenoid Yield in Plants”, *Plant Secondary Metabolism Engineering: Methods in Molecular Biology*, 643, 213-227 (2010) (DOI: 10.1007/978-1-60761-723-5_15)
4. Yuji Suzuki, Kihara-Doi, Tetsu Kawazu, Chikahiro Miyake, Amane Makino, “Differences in Rubisco content and its synthesis in leaves at different positions in *Eucalyptus globulus* seedlings”, *Plant Cell and Environment*, 33, 1314-1323 (2010) (DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02149.x)
5. Guo Li, Pei-Si Le, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Effects of the shielding cylinder and substrate on the characteristics of an argon radio-frequency atmospheric glow discharge plasma jet”, *Journal of Applied Physics*, 107, 103304 (2010) (DOI:10.1063/1.3427558)
6. Makio Yokono, Akio Murakami, Seiji Akimoto, “Excitation energy transfer between Photosystem II and Photosystem I in red algae: Larger amounts of phycobilisome enhance spillover”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1807, 847-853 (2011) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2011.03.014)
7. Mamoru Mimuro, Akio Murakami, Tatsuya Tomo, Tohru Tsuchiya, Kazuyuki Watabe, Makio Yokono, Seiji Akimoto, “Molecular environments of divinyl chlorophylls in *Prochlorococcus* and *Synechocystis*: Differences in fluorescence properties with chlorophyll replacement”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1807, 471-481 (2011) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2011.02.011)
8. Katsunori Yoshikawa, Yuta Kojima, Tsubasa Nakajima, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Reconstruction and verification of a genome-scale metabolic model for *Synechocystis* sp. PCC 6803”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92, 347-358 (2011) (DOI: 10.1007/s00253-011-3559-x)
9. Ryota Saito, Hiroshi Yamamoto, Amane Makino, Toshio Sugimoto, Chikahiro Miyake, “Methylglyoxal functions as Hill oxidant and stimulates the photoreduction of O₂ at photosystem I: a symptom of plant diabetes”, *Plant Cell and Environment*, 34, 1454-1464 (2011) (DOI: 10.1111/j.1365-3040.2011.02344.x)
10. Chie Ishikawa, Tomoko Hatanaka, Syuji Misoo, Chikahiro Miyake, Hiroshi Fukayama, “Functional Incorporation of Sorghum Small Subunit Increases the Catalytic Turnover Rate of Rubisco in Transgenic Rice”, *Plant Physiology*, 156, 1603-1611 (2011) (DOI: 10.1104/pp.111.177030)
11. He-Ping Li, Li-Yan Wang, Guo Li, Li-Hua Jin, Pei-Si Le, Hong-Xin Zhao, Xin-Hui Xing,

- Cheng-Yu Bao, "Manipulation of lipase activity by the helium radio-frequency, atmospheric-pressure glow discharge plasma jet", *Plasma Processes and Polymers*, 8, 224-229, (2011) (DOI: 10.1002/ppap.201000035)
12. Yuan Lu, Li-Yan Wang, Kun Ma, Guo Li, Chong Zhang, Hong-Xin Zhao, Qi-Heng Lai, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, "Characteristics of hydrogen production of an *Enterobacter aerogenes* mutant generated by a new atmospheric and room temperature plasma (ARTP)", *Biochemical Engineering Journal*, 55, 17-22 (2011) (DOI: 10.1016/j.bej.2011.02.020)
 13. Zhi-Bin Wang, Pei-Si Le, Nan Ge, Qiu-Yue Nie, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, "One-dimensional modeling on the asymmetric features of a radio-frequency atmospheric helium glow discharge produced using a co-axial-type plasma generator", *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 32, 859-874 (2012) (DOI: 10.1007/s11090-012-9367-y)
 14. Makio Yokono, Hiroko Uchida, Yuzuru Suzawa, Seiji Akimoto, Akio Murakami, "Stabilization and modulation of the phycobilisome by calcium in the calciphilic freshwater red alga *Bangia atropurpurea*", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817, 306-311 (2012) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2011.11.002)
 15. Makio Yokono, Tatsuya Tomo, Ryo Nagao, Hisashi Ito, Ayumi Tanaka, Seiji Akimoto, "Alternations in photosynthetic pigments and amino acid composition of D1 protein change energy distribution in photosystem II", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817, 754-759 (2012) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.02.009)
 16. Seiji Akimoto, Makio Yokono, Fumiya Hamada, Ayaka Teshigahara, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, "Adaptation of light-harvesting systems of *Arthrospira platensis* to light conditions, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817, 1483-1489 (2012) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.01.006)
 17. Fumiya Hamada, Makio Yokono, Euichi Hirose, Akio Murakami, Seiji Akimoto, "Excitation energy relaxation in a symbiotic cyanobacterium, *Prochloron didemni*, occurring in coral-reef ascidians, and in a free-living cyanobacterium, *Prochlorothrix hollandica*", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817, 1992-1997 (2012) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.06.008)
 18. Shimpei Aikawa, Yoshihiro Izumi, Fumio Matsuda, Tomohisa Hasunuma, Jo-Shu Chang, Akihiko Kondo, "Synergistic enhancement of glycogen production in *Arthrospira platensis* by optimization of light intensity and nitrate supply", *Bioresource Technology*, 108, 211-215 (2012) (DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.004)
 19. Chikahiro Miyake, Yuji Suzuki, Hiroshi Yamamoto, Katsumi Amako, Amane Makino, "O₂-enhanced induction of photosynthesis in rice leaves: the Mehler-ascorbate peroxidase (MAP) pathway drives cyclic electron flow within PSII and cyclic electron flow around PSI", *Soil Science & Plant Nutrition*, 58, 718-727 (2012) (DOI: 10.1080/00380768.2012.736078)
 20. Daisuke Takagi, Hiroshi Yamamoto, Katsumi Amako, Amane Makino, Toshio Sugimoto, Chikahiro Miyake, "O₂ supports 3-phosphoglycerate-dependent O₂ evolution in chloroplasts from spinach leaves", *Soil Science & Plant Nutrition*, 58, 462-468 (2012) (DOI: 10.1080/00380768.2012.706592)
 21. Ryo Nagao, Makio Yokono, Seiji Akimoto, Tatsuya Tomo, "High excitation energy quenching in fucocanthin chlorophyll *a/c*-binding protein complexes from the diatom *Chaetoceros gracilis*", *Journal of Physical Chemistry B*, 117, 6888-6895 (2013) (DOI: 10.1021/jp403923q)
 22. Seiji Akimoto, Makio Yokono, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, "Modification of energy transfer processes in the cyanobacterium *Arthrospira platensis* to adapt to light conditions, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy", *Photosynthesis Research*, 117, 235-243 (2013) (DOI: 10.1007/s11120-013-9830-5)
 23. Muhammad Arba, Shimpei Aikawa, Kenta Niki, Makio Yokono, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, "Differences in excitation energy transfer of *Arthrospira platensis* cells grown in seawater medium and freshwater medium, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy", *Chemical Physics Letters*, 588, 231-236 (2013) (DOI: 10.1016/j.cplett.2013.10.031)
 24. Mingyue Fang, Lihua Jin, Chong Zhang, Yinyee Tan, Peixia Jiang, Nan Ge, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, "Rapid mutation of *Arthrospira platensis* by a new mutagenesis system of atmospheric and room temperature plasmas (ARTP) and generation of a mutant library with diverse phenotypes", *PLoS ONE*, 8, e77046 (2013) (DOI: 10.1371/journal.pone.0077046)
 25. Katsunori Yoshikawa, Takashi Hirasawa, Kenichi Ogawa, Yuki Hidaka, Tsubasa Nakajima,

- Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, “Integrated transcriptomic and metabolomic analysis of the central metabolism of *Synechocystis* sp. PCC 6803 under different trophic conditions”, *Biotechnology Journal*, 8, 571-580 (2013) (DOI: 10.1002/biot.201200235)
26. Ginga Shimakawa, Tatsuya Iwamoto, Tomohito Mabuchi, Ryota Saito, Hiroshi Yamamoto, Katsumi Amako, Toshio Sugimoto, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Acrolein, an a,b-unsaturated carbonyl, inhibits both growth and PSII activity in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 77, 1655-1660 (2013) (DOI: 10.1271/bbb.130186)
 27. Ryota Saito, Ginga Shimakawa, Akiko Nishi, Tatsuya Iwamoto, Katsuhiko Sakamoto, Hiroshi Yamamoto, Katsumi Amako, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Functional analysis of the AKR4C-subfamily of *Arabidopsis thaliana*: Model structures, substrate specificity, acrolein toxicity, and responses to light and [CO₂]”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 77, 2038-2045 (2013) (DOI: 10.1271/bbb.130353)
 28. Ginga Shimakawa, Mayumi Suzuki, Eriko Yamamoto, Akiko Nishi, Ryota Saito, Katsuhiko Sakamoto, Hiroshi Yamamoto, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Scavenging systems for reactive carbonyls in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 77, 2441-2448 (2013) (DOI: 10.1271/bbb.130554)
 29. Shih-Hsin Ho, Akihiko Kondo, Tomohisa Hasunuma, Jo-Shu Chang, “Engineering strategies on improving the CO₂ fixation and carbohydrate productivity of *Scenedesmus obliquus* CNW-N used for bioethanol fermentation”, *Bioresource Technology*, 143, 163-171 (2013) (DOI: 10.1016/j.biortech.2013.05.043)
 30. Shih-Hsin Ho, Shu-Wen Huang, Chun-Yen Chen, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, Jo-Shu Chang, “Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E”, *Bioresource Technology*, 135, 157-165 (2013) (DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.100)
 31. Shih-Hsin Ho, Shu-Wen Huang, Chun-Yen Chen, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, and Jo-Shu Chang, “Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock”, *Bioresource Technology*, 135, 191-198 (2013) (DOI:10.1016/j.biortech.2012.10.015)
 32. Ancy Joseph, Shimpei Aikawa, Kengo Sasaki, Yota Tsuge, Fumio Matsuda, Tsutomu Tanaka, Akihiko Kondo, “Utilization of lactic acid bacterial genes in *Synechocystis* sp. PCC6803 in the production of lactic acid”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 77, 966-970 (2013) (DOI: 10.1271/bbb.120921)
 33. Yoshihiro Izumi, Shimpei Aikawa, Fumio Matsuda, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, “Aqueous size-exclusion chromatographic method for the quantification of cyanobacterial native glycogen”, *Journal of Chromatography B*, 930, 90-97 (2013) (DOI: 10.1016/j.jchromb.2013.04.037)
 34. Shimpei Aikawa, Ancy Joseph, Ryosuke Yamada, Yoshihiro Izumi, Takahiro Yamagishi, Fumio Matsuda, Tomohisa Hasunuma, Hiroshi Kawai, Jo-Shu Chang, Akihiko Kondo, “Direct conversion from *Spirulina* to ethanol without pretreatment and enzyme hydrolysis processes”, *Energy and Environmental Science*, 6, 1844-1849 (2013) (DOI: 10.1039/C3EE40305J)
 35. Ancy Joseph, Shimpei Aikawa, Kengo Sasaki, Hiroshi Teramura, Tomohisa Hasunuma, Fumio Matsuda, Takeshi Osanai, Masami Yokota-Hirai, Akihiko Kondo, “Rre37 stimulates accumulation of 2-oxoglutarate and glycogen under nitrogen starvation in *Synechocystis* sp. PCC 6803”, *FEBS Letters*, 588, 466-471 (2014) (DOI: 10.1016/j.febslet.2013.12.008)
 36. Ancy Joseph, Shimpei Aikawa, Kengo Sasaki, Fumio Matsuda, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, “Increased biomass production and glycogen accumulation in *apcE* gene deleted *Synechocystis* sp. PCC6803”, *Applied Microbiology and Biotechnology Express*, 4, 17 (2014) (DOI: 10.1186/s13568-014-0017-z)
 37. Xue Zhang, Xiao-Fei Zhang, He-Ping Li, Li-Yan Wang, Chong Zhang, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) as a new powerful mutagenesis tool (Mini Review)”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 5387-5396 (2014) (DOI: 10.1007/s00253-014-5755-y)
 38. Xiao-Fei Zhang, Zhi-Bin Wang, Qiu-Yue Nie, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Influences of gas flowing on the features of a helium radio-frequency atmospheric-pressure glow discharge”,

- Applied Thermal Engineering, 72, 82-89 (2014) (DOI: 10.1016/j.applthermaleng.2014.03.013)
39. Seiji Akimoto, Makio Yokono, Erina Yokono, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Short-term light adaptation of a cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 81, 149-154 (2014) (DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.01.007)
 40. Mie Araki, Seiji Akimoto, Mamoru Mimuro, Tohru Tsuchiya, “Artificially acquired chlorophyll *b* is highly acceptable to the thylakoid-lacking cyanobacterium, *Gloeobacter violaceus* PCC 7421”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 81, 155-162 (2014) (DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.01.006)
 41. Seiji Akimoto, Ayaka Teshigahara, Makio Yokono, Mamoru Mimuro, Ryo Nagao, Tatsuya Tomo, “Excitation relaxation dynamics and energy transfer in fucoxanthin-chlorophyll *a/c*-protein complexes, probed by time-resolved fluorescence”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1837, 1514-1521 (2014) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2014.02.002)
 42. Tatsuya Tomo, Toshiyuki Shinoda, Min Chen, Suleyman I. Allakverdiev, Seiji Akimoto, “Energy transfer processes in chlorophyll *f*-containing cyanobacteria using time-resolved fluorescence spectroscopy on intact cells”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1837, 1484-1489 (2014) (DOI: 10.1016/j.bbabi.2014.04.009)
 43. Ryo Nagao, Makio Yokono, Tatsuya Tomo, Seiji Akimoto, “Control mechanism of excitation energy transfer in a complex consisting of photosystem II and fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein”, *Journal of Physical Chemistry Letters*, 5, 2983-2987 (2014) (DOI: 10.1021/jz501496p)
 44. Shimpei Aikawa, Atsumi Nishida, Shih-Hsin Ho, Jo-Shu Chang, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, “Glycogen production for biofuels by the euryhaline cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7002 from an oceanic environment”, *Biotechnology for Biofuels*, 7, 88 (2014) (DOI: 10.1186/1754-6834-7-88)
 45. Tsubasa Nakajima, Shuichi Kajihata, Katsunori Yoshikawa, Fumio Matsuda, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Integrated metabolic flux and omics analysis of *Synechocystis* sp. PCC 6803 under mixotrophic and photoheterotrophic conditions”, *Plant Cell Physiology*, 55, 1605-1612 (2014) (DOI: 10.1093/pcp/pcu091)
 46. Katsunori Yoshikawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Effect of malic enzyme on ethanol production in *Synechocystis* sp. PCC 6803”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119, 82-84 (2014) (DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.06.001)
 47. Ryosuke Hayashi, Ginga Shimakawa, Keiichiro Shaku, Satoko Shimidu, Seiji Akimoto, Hiroshi Yamamoto, Katsumi Amako, Toshio Sugimoto, Masahiro Tamoi, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “O₂-dependent large electron flow functions as electron sink, replacing the steady-state electron flux in photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, but not in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 78, 384-393 (2014) (DOI: 10.1080/09168451.2014.882745)
 48. Daisuke Takagi, Hironori Inoue, Mizue Odawara, Ginga Shimakawa, Chikahiro Miyake, “The calvin cycle inevitably produces sugar-derived reactive carbonyl methylglyoxal during photosynthesis: a potential cause of plant diabetes”, *Plant Cell Physiology*, 55, 333-340 (2014) (DOI: 10.1093/pcp/pcu007)
 49. Ginga Shimakawa, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, Mami Matsuda, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Respiration accumulates Calvin cycle intermediates for the rapid start of photosynthesis in *Synechocystis* sp. PCC 6803”, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 78, 5-11 (2014) (DOI: 10.1080/09168451.2014.943648)
 50. Takehiko Sejima, Daisuke Takagi, Hiroshi Fukayama, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem I in sunflower leaves”, *Plant Cell Physiology*, 55, 1184-93 (2014) (DOI: 10.1093/pcp/pcu061)
 51. Ginga Shimakawa, Mayumi Suzuki, Eriko Yamamoto, Ryota Saito, Tatsuya Iwamoto, Akiko Nishi, Chikahiro Miyake, “Why don't plants have diabetes? Systems for scavenging reactive carbonyls in photosynthetic organisms”, *Biochemical Society Transaction*, 42, 543-547 (2014) (DOI: 10.1042/BST20130273)
 52. Chun-Yen Chen, Ching-Yu Chang, Yung-Chung Lo, Shih-Hsin Ho, Jo-Shu Chang, “Enhancing biohydrogen production from *Chlorella vulgaris* FSP-E under mixotrophic cultivation

- conditions”, *Energy Procedia*, 61, 870-873 (2014) (DOI: 10.1016/j.egypro.2014.11.984)
53. Seiji Akimoto, Toshiyuki Shinoda, Min Chen, Suleyman I. Allakverdiev, Tatsuya Tomo, “Energy transfer in the chlorophyll *f*-containing cyanobacterium, *Halomicronema hongdechloris*, analyzed by time-resolved fluorescence spectroscopies” *Photosynthesis Research* (DOI: 10.1007/s11120-015-0091-3) (in press)
 54. Kenta Niki, Shimpei Aikawa, Makio Yokono, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Differences in energy transfer of a cyanobacterium, *Synechococcus* sp. PCC 7002, grown in different cultivation media” *Photosynthesis Research* (DOI: 10.1007/s11120-015-0079-z) (in press)
 55. Aya Onishi, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Energy transfer in *Anabaena variabilis* filaments under nitrogen depletion, studied by time-resolved fluorescence” *Photosynthesis Research* (DOI: 10.1007/s11120-015-0078-0) (in press)
 56. Yoshifumi Ueno, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Light adaptation of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy” *Photosynthesis Research* (DOI: 10.1007/s11120-015-0089-x) (in press)
 57. Masakazu Toyoshima, Shimpei Aikawa, Takahiro Yamagishi, Akihiko Kondo, Hiroshi Kawai, “A pilot-scale floating closed culture system for the multicellular cyanobacterium *Arthrospira platensis* NIES-39”, (DOI: 10.1007/s10811-014-0484-2) (in press)
 58. Mkaio Yokono, Atsushi Takabayashi, Seiji Akimoto, Ayumi Tanaka, “A megacomplex composed of both photosystem reaction centers in higher plants”, *Nature Communications*, (DOI: 10.1038/ncomms7675) (in press)
 59. Yinyee Tan, Mingyue Fang, Lihua Jin, Chong Zhang, Heping Li, Xin-Hui Xing, “Culture characteristics of the ARTP-mutated *Spirulina platensis* mutants in CO₂ aeration culture system for biomass production”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, (DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.02.012) (in press)

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

1. 王立言, “常圧室温等离子体对微生物的作用机理及其应用基础研究”, 清华大学博士学位论文 (2009)
2. 近藤昭彦, 荻野千秋, 蓮沼誠久, 田中勉, 中島一紀, “次世代燃料・化成品原料製造に向けたバイオリファイナリー戦略”, *生物工学*, 88, 333-335 (2010)
3. 邢新会, 金丽华, 李和平, “微生物基因组快速突变新方法”, 2010 工业生物技术发展报告, pp.285-298, 中国科学院生命科学与生物技术局, 科学出版社, 北京 (2010)
4. 蓮沼誠久, 藍川晋平, 和泉自泰, 近藤昭彦, “微細藻類によるバイオリファイナリー”, *日本生物工学会誌*, 4, 181-183 (2011)
5. Seiji Akimoto, Makio Yokono, Fumiya Hamada, Ayaka Teshigahara, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Light adaptation of cyanobacteria probed by time-resolved fluorescence: modification of energy transfer”, *Proceedings of DAE-BRNS Eleventh Biennial Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry (TSRP-2012)*, Ebenezer Printing House, Mumbai (India), pp 30–31 (2012) (ISBN: 81-88513-47-4)
6. 清水浩, 古澤力, 平沢敬, 吉川勝徳, 小野直亮, 戸谷吉博, 白井智量, “代謝工学の創成と発展-代謝解析とオミクス研究との融合”, *日本生物工学会誌*, 第 90 巻, 第 10 号, 619-623 (2012)
7. 吉川勝徳, 古澤力, 平沢敬, 清水浩, “光合成微生物システムバイオロジー”, *日本生物工学会誌*, 第 90 巻, 第 10 号, 627-628 (2012)
8. 清水浩, 古澤力, 白井智量, 吉川勝徳, 平沢敬, “合成生物学の隆起-有用物質の新たな生産法構築を目指して”, 「第三章 オミクス解析の視点 2. ゲノムスケール代謝デザインとフラックス解析に依る微生物粗細胞創製」, 植田充美監修, シーエムシー出版 (2012)
9. 川井浩史, 中山剛, “微細藻類によるエネルギー生産と事業展望”, 「第一章 微細藻類の基礎・分類と系統解析」, 竹山春子監修, シーエムシー出版 (2012)
10. 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “藻類ハンドブック”, 第 3 章第 5 節 3, システムバイオロジー技術, エヌ・ティー・エス (2012)
11. 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “微細藻類によるエネルギー生産と事業展望”, 第 17 章, バイオ

リファイナリーの微細藻類への展開, シーエムシー出版 (2012)

12. Katsunori Yoshikawa, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Design of superior cell factories based on systems wide omics analysis”, *Systems Metabolic Engineering - Towards Superior Cell Factories*, Springer, pp 57-81 (2012) (DOI: 10.1007/978-94-007-4534-6_3)
13. 王志斌, “裸露金属电极结构大气压射频辉光放电等离子体特性研究”, 清华大学博士学位论文 (2013)
14. Xue Zhang, Xiao-Fei Zhang, He-Ping Li, Li-Yan Wang, Chong Zhang, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) as a new powerful mutagenesis tool”, *Applied Microbiology and biotechnology*, 98, 5387-5396 (2014) (DOI: 10.1007/s00253-014-5755-y)
15. 秋本誠志, “生命科学を理解するための蛍光の基礎Ⅱ (時間分解蛍光と異方性)”, *分光研究*, 63, 73-81 (2014)
16. Shimpei Aikawa, Shih-Hsin Ho, Akihiko Kondo, Tomohisa Hasunuma, “Poly-glucans in cyanobacteria and microalgae for bioethanol production processes”, *Biotechnology Journal*, (in press)
17. Xue Zhang, Chong Zhang, Qian-Qian Zhou, Xiao-Fei Zhang, Li-Yan Wang, Hai-Bo Chang, He-Ping Li, Yoshimitsu Oda, Xin-Hui Xing, “Quantitative evaluation of DNA damage and mutation rate after atmospheric and room-temperature plasma (ARTP) and conventional mutagenesis methods”, *Applied Microbiology and Biotechnology* (in press)

(3) 国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 36 件、国際会議 41 件)

(国内)

1. 近藤昭彦 (神戸大), “藻類エタノール増産に向けたシンセティックバイオエンジニアリング”, 日本藻類学会第 34 回大会つくば 2010 公開シンポジウム「未来を開く藻類エネルギー」, 筑波, 2010 年 3 月 21 日
2. 邢新会 (清華大), “高性能発酵細胞工場の創出方法”, 中国第五回農薬技術イノベーション大会, 深圳, 2010 年 3 月 31 日-4 月 2 日
3. 邢新会 (清華大), 李和平, “非 GMO 微生物基因组の快速突変新技术和装置研究”, 第二届全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会, 大庆, 2010 年 7 月 31 日-8 月 2 日
4. 邢新会 (清華大), 李和平, “非 GMO 微生物基因组快速突變技术及其应用”, 全国发酵与食品微生物学术论坛, 厦门, 2010 年 10 月 26-27 日
5. 近藤昭彦 (神戸大), 蓮沼誠久, “微細藻を利用したバイオ燃料生産システムの構築へ向けて”, 第 62 回日本生物工学会大会, 宮崎, 2010 年 10 月 27-29 日
6. 古澤力(大阪大), “ゲノムスケール代謝モデルを用いた *Synechocystis* sp. PCC 6803 の代謝解析”, 藻類プロテクトフォーラム, 筑波, 2010 年 12 月 20 日
7. 邢新会 (清華大), 金丽华, 王立言, 葛楠, 方明月, 张雪, 乐沛思, 李果, 黄子亮, 张翀, 蒋培霞, 李和平, 包成玉, “常压室温等离子体微生物基因组快速突變技术研究”, 第五届中国工业生物技术发展高峰论坛, 青岛, 2011 年 5 月 25-27 日
8. 蓮沼誠久 (神戸大), 近藤昭彦, “合成生物学によるバイオ燃料生産のための微生物細胞工場の創製”, JBA 新資源生物変換研究会主催シンポジウム, 神戸, 2011 年 6 月 17 日
9. 邢新会 (清華大), “我国生物化工发展的机遇与挑战: 细胞工厂的设计, 改造及其过程集成”, 第五届中国生物产业大会 2011, 先进生物制造产业论坛, 深圳, 2011 年 6 月 18 日
10. 平沢敬(大阪大), 吉川勝徳, 古澤力, 清水浩, “有用微生物創製を目指した代謝フラックス解析 —in vivo 代謝観測システムと in silico 代謝予測システム”, 第 63 回日本生物工学会大会, 東京, 2011 年 9 月 26-28 日
11. 清水浩(大阪大), “ゲノムスケール代謝デザインとフラックス解析による微生物細胞創

- 製”，「細胞を創る」研究会 4.0，大阪，2011年10月26–28日
12. 古澤力(大阪大)，“同位体標識を用いた代謝フラックス解析とその応用”，日本農芸化学会大会2012年度大会，京都，2012年3月22–26日
 13. 近藤昭彦(神戸大)，“海洋性藻類からのバイオエタノール生産技術の開発”，第32期工業材料ゼミナール，京都，2012年5月16日
 14. 邢新会(清華大)，“常温状圧プラズマ(ARTP)による微生物ゲノム迅速変異方法およびその応用”，2012年工業生物プロセス最適化と制御シンポジウム，中国上海華東理工大学，2012年8月13–15日
 15. 吉川勝徳(大阪大)，“微細藻類のシステムバイオロジー解析”，第二回代謝工学研究部会シンポジウム，大阪，2012年11月29日
 16. Seiji Akimoto (Kobe Univ.)， “Modification of energy-transfer processes in photosynthetic organisms to adapt to light conditions”，創製光分子科学セミナー，Kobe, Japan, 2013, March 27.
 17. 藍川晋平(神戸大)，“窒素制限下でのシアノバクテリアの代謝変化における転写制御因子Rre37の機能解析”，ラン藻ゲノム交流会，東京，2013年7月13日
 18. 李和平(清華大)，張曉菲，王志斌，聂秋月，張雪，張翀，王立言，卢元，包成玉，邢新会，“大气压射频辉光放电等离子体射流工业微生物诱变育种研究进展”，上海：第十六届全国等离子体科学技术会议暨第一届全国等离子体医学研讨会，2013年8月15–18日
 19. 李和平(清華大)，張曉菲，王志斌，聂秋月，包成玉，“大气压射频辉光放电等离子体中能量传递机制的研究”，中国厦门，中国物理学会2013年秋季学术会议，2013年9月12–15日
 20. 邢新会(清華大)，“面向工业生物技术时代的微生物进化育种技术研究”，2013中国化工学会年会，中国南京，2013年9月23–25日
 21. 平沢敬(大阪大)，“異なる栄養条件下におけるシアノバクテリアの遺伝子発現・代謝の統合オミクス解析”，第7回メタボロームシンポジウム，山形，2012年10月10–12日
 22. 邢新会(清華大)，“ARTP 生物进化机器的研发机遇与挑战”，2013年生物诱变育种及高通量筛选技术理论与应用研讨会，中国无锡，2013年11月6–8日
 23. 張翀(清華大)，王天民，刘树德，吴亦楠，邢新会，“微生物连续自进化构建高效细胞工厂”，2013年生物诱变育种及高通量筛选技术理论与应用研讨会，中国无锡，2013年11月6–8日
 24. 近藤昭彦(神戸大)，“「微細藻類バイオリファイナー」の構築に向けた取り組み”，第13回RIBS バイオサイエンスシンポジウム&日本光合成学会公開講座，岡山，2013年11月15日
 25. 清水浩(大阪大)，“シアノバクテリアの代謝工学”，ラン藻の分子生物学2013，千葉，2013年11月22–23日
 26. 秋本誠志(神戸大)，“光合成系における励起エネルギー移動の環境応答”，理研シンポジウム「最先端光計測とライフサイエンスの近未来–バイオ・ラマン2017– [4]」，仙台，2014年5月1–2日
 27. 秋本誠志(神戸大)，“クロロフィルの光エネルギー捕集にみられる多様性”，公開シンポジウム「多様な光合成の世界」、第5回日本光合成学会年会，奈良，2014年5月30–31日
 28. 秋本誠志(神戸大)，“時間分解蛍光分光法を用いた光合成初期過程の観測”，光合成セミナー2014：反応中心と色素系の多様性，名古屋，2014年7月12–13日
 29. 清水浩(大阪大)，“微細藻類細胞工場のための代謝工学基盤技術開発”，未来へのバイオ技術勉強会，「藻類が拓くグリーンバイオ成長戦略のラストステージ」，バイオインダストリー協会，東京，2014年8月17日
 30. 近藤昭彦(神戸大)，“藻類を利用したバイオリファイナーへの挑戦”，バイオインダストリー協会・未来へのバイオ技術勉強会「藻類が拓くグリーンバイオ成長戦略のラストステージ」，東京，2014年8月18日

31. 蓮沼誠久 (神戸大), “代謝プロファイリングに基づく微生物育種技術の開発と応用”, 第 66 回日本生物工学会大会 第 50 回生物工学奨励賞 (斎藤賞) 受賞講演, 札幌, 2014 年 9 月 7-11 日
32. 蓮沼誠久 (神戸大), “代謝系解析に基づく藻類からの液体燃料生産への挑戦”, 第 66 回日本生物工学会大会シンポジウム, 札幌, 2014 年 9 月 7-11 日
33. 吉川勝徳(大阪大), “代謝モデルを用いた in silico 代謝予測と有用物質生産への応用”, 第 66 回日本生物工学会大会, 北海道, 2014 年 9 月 9-11 日
34. 蓮沼誠久 (神戸大), “バイオリファイナリーに向けた微生物の開発と代謝系解析の応用”, 日本植物学会第 78 回大会ランチョンセミナー, 川崎, 2014 年 9 月 12-14 日
35. 蓮沼誠久 (神戸大), “代謝系解析に基づくラン藻・微細藻からのバイオ燃料生産への挑戦”, 日本植物学会第 78 回大会シンポジウム, 川崎, 2014 年 9 月 12-14 日
36. 蓮沼誠久 (神戸大), “オミクス解析のバイオリファイナリー, バイオ医薬品生産への応用”, アジレントセミナー「Agilent Metabolomics Days 2014」, 東京, 2014 年 10 月 2 日

(国際)

1. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Production of biofuels and chemicals by using cell surface and metabolic pathway engineered microbial cells,” Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 (APBioChEC'09), Hyogo, Japan, 2009. Nov. 26.
2. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Multiomics analyses for identification of important genes under stress conditions in bioprocesses”, Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 (APBioChEC'09), Hyogo, Japan, 2009. Nov. 26.
3. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), He-Ping Li, “A new tool for rapid mutation of microbial genomes”, In: proceedings of 2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE' 2010), Beijing, China, 2010. July 23-25.
4. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Systems biotechnology for creation of microbial cell factory” 2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE'2010), Beijing, China, 2010. July 23-25.
5. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), He-Ping Li, “A new high throughput genome mutation tool for biofuel and biochemical production by creation of super microbes”, International Conference On Biomass Energy Technologies (ICBT 2010), Beijing, China, 2010. Aug. 21-23.
6. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), Liyan Wang, Ming-Yue Fang, Li-Hua Jin, Nan Ge, Pei-Si Le, Guo Li, Ziliang Huang, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Rapid Mutation of Microbial Genomes by Atmospheric and Room Temperature Plasma (ARTP)”, Asian Congress on Biotechnology 2011 (ACB-2011), Shanghai, China, 2011. May 11-15.
7. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Omics Approach to Improve Performance of Microbial Cell Factory”, Asian Congress on Biotechnology (ACB-2011), Shanghai, China, 2011. May 11-15.
8. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), Liyan Wang, Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, Xue Zhang, Nan Ge, Pei-Si Le, Guo Li, Ziliang Huang, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Rapid Mutation of Genomes by Atmospheric and Room Temperature Plasma (ARTP) for Microbial Evolution Engineering”, 2011 International Conference for Bioeconomy (BioEco 2011), Tianjin, 2011. June 26-28.
9. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Metabolic engineering using genome-scale metabolic model for superior cell factories”, SIM Annual Meeting and Exhibition (SIM2011), New Orleans, LA, USA, 2011. July 24-28.
10. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Makio Yokono, Fumiya Hamada, Ayaka Teshigahara, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Optimization of light harvesting probed by time-resolved spectroscopy”, Photosynthesis Research for Sustainability, Baku, Azerbaijan, 2011. July 24-30.
11. Tomohisa Hasunuma (Kobe Univ.), “Production of bio-ethanol from microalgae through cell surface engineering”, 5th International Algae Congress, Berlin, Germany, 2011. Dec. 1-2.
12. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Makio Yokono, Fumiya Hamada, Ayaka Teshigahara, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Light adaptation of cyanobacteria probed by time-resolved fluorescence: Modification of energy transfer”, Trombay Symposium on Radiation and Photochemistry (TSRP 2012), Mumbai, India, 2012. Jan. 4-7.

13. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, Chong Zhang, Pei-xia Jiang, Nan Ge, He-Ping Li, “Systematic Analysis of *Arthrospira platensis* Mutants Evolved by Atmospheric and Room Temperature Plasmas (ARTP)”, Asia Forum for Biological Science and Technology 2012, Tokyo, Japan, 2012. Jan. 17.
14. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Integration of in silico and experimental approaches for creation of microbial cell factories”, 14th Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering (APCChE 2012), Suntec, Singapore, 2012. Feb. 21–24.
15. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), Ming-Yue Fang, Yunyee Ten, Xue Zhang, Li-Hua Jin, Liyan Wang, Peixia Jiang, Chong Zhang, He-Ping Li, “Systematic Analysis of *Arthrospira platensis* Mutants Evolved by Atmospheric and Room Temperature Plasmas (ARTP)”, Chinese-German Symposium on Metabolic Engineering & Advanced Biofuels, Qingdao, China, 2012. June 11–14.
16. Xing Xin-Hui (Tsinghua Univ.), “Comparative study on DNA damage levels by different mutation methods for construction of microbial mutation libraries”, ECI Biochemical and Molecular Engineering XVIII, Beijing, China, 2013. June 16–20.
17. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Systems metabolic engineering for creation of superior microbial cell factories”, Systems Biotechnology of Microalgae for Bioproduction, Daegu, Korea, 2012. Sep. 16–21.
18. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Application of Genome Scale Models to Design of Microbial Cell Factories”, COBRA 2012-2nd conference on constraint-based reconstruction and analysis, Copenhagen, Denmark, 2012. Oct. 7–9.
19. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Development of sustainable biorefinery based on microalgae”, The 90th Anniversary Meeting of the Society for Biotechnology Japan, Kobe, Japan, 2012. Oct. 24–26.
20. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), “Application of time-resolved fluorescence spectroscopy to studies on light adaptation of photosynthetic organisms”, Transdisciplinary cooperation and application of nanoscience, Krakow, Poland, 2013. Feb. 21–22.
21. Shimpei Aikawa (Kobe Univ.), “Direct conversion of cyanobacteria to ethanol without pretreatment or enzymatic hydrolysis processes”, JSPS Japanese-German Graduate Externship Program, Biotechnology and Chemistry for Green Growth, Osaka, Japan, 2013. Mar. 11–13.
22. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Ayaka Teshigahara, Makio Yokono, Ryo Nagao, Tatsuya Tomo, “Excitation relaxation dynamics and energy transfer in fucoxanthin-chlorophyll *a/c*-protein complexes”, Photosynthesis Research for Sustainability – 2013, Baku, Azerbaijan, 2013. June 5–9.
23. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), “Toward systems metabolic engineering of cyanobacteria”, 1st Korea-Japan Microalgae Symposium, Daejeon, Korea, 2013. Oct. 10–12.
24. Shimpei Aikawa (Kobe Univ.), “Direct conversion of cyanobacteria to ethanol without pretreatment or enzymatic hydrolysis process”, 1st Korea-Japan, Microalgae Symposium, Daejeon, Korea, 2013. Oct. 10–12.
25. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), “Adaptation of light-harvesting systems of cyanobacteria to light conditions”, The 1st Korea-Japan Microalgae Symposium, Daejeon, Korea, 2013, Oct. 10–12
26. Akihiko Kondo, “Development of microbial cell factories for biorefineries”, Toward the use of atmospheric CO₂—from photosynthesis to biorefinery, Tokyo, Japan, 2013. Nov. 8.
27. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Engineering microbial cell factories: consolidated bioprocessing for production of biofuels and chemicals from biomass”, 4th International Conference on Biorefinery towards Bioenergy 2013, Xiamen, China, 2013. Nov. 22–23.
28. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Development of sustainable biorefinery based on microalgae and cyanobacteria”, Asia Biohydrogen and Bioenergy 2013, Osaka, Japan, 2013. Nov. 22–23.
29. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Systems metabolic engineering - Rational design of microbial cell factories”, Asian Congress on Biotechnology 2013, Delhi, India, 2013. Dec. 15–19.
30. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Kenta Niki, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Differences in energy transfer of cyanobacteria grown in different cultivation media”, Photosynthesis Research for Sustainability-2014, Pushchino, Russia, 2014. June 2–7.
31. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Integration of in silico Design and Experimental Evaluation for Creation of Microbial Cell Factories”, Metabolic Engineering X, Vancouver, Canada, 2014. June

- 15-19.
32. Xin-Hui Xing(Tsinghua Univ.), Xue Zhang, Chong Zhang, Liyan Wang, Xiao-Fei Zhang, Haibo Chang, He-Ping Li, “ARTP (atmospheric and room temperature plasma) as a powerful mutation system for biotechnology application”, AFOB Bioenergy and Biorefinery Division Annual Meeting and Bioenergy and Biorefinery Summit 2014, Shandong, China, 2014. Aug. 24-27.
 33. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), Xue Zhang, Chong Zhang, Liyan Wang, Xiao-Fei Zhang, Haibo Chang, He-Ping Li, “ARTP (atmospheric and room temperature plasma) as a powerful mutation system for biotechnology application”, Proceedings of 2014 International Symposium on Plasmas for Catalysis and Energy Materials, Tianjian, China, 2014. Sep. 13-16.
 34. He-Ping Li (Tsinghua Univ.), Xiao-Fei Zhang, Xue Zhang, Li-Yan Wang, Chong Zhang, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Recent progress of fundamental studies on the radio-frequency atmospheric-pressure glow discharge plasmas and their applications in mutation breeding of organisms”, 2014 MRS Fall Meeting & Exhibit: Symposium G: Plasma Processing and Diagnostics for Life Sciences, Boston, Massachusetts, 2014. Nov. 30-Dec. 5.
 35. T. Hasunuma (Kobe Univ.), “Development of dynamic metabolic profiling of cyanobacteria and microalgae”, iBioT 2014, National Cheng Kung University, Tainan Taiwan, 2014. Nov. 9-11.
 36. S. Aikawa (Kobe Univ.), T. Hasunuma, A. Kondo, “The development of bioconversion process to bio-ethanol from cyanobacteria *Spirulina* biomass”, iBioT 2014, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan, 2014. Nov. 9-11.
 37. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), “Development of systems metabolic engineering tools for cyanobacteria”, 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit (AOAIS 2014), Daejeon, Korea, 2014. Nov. 17-20.
 38. T. Hasunuma (Kobe Univ.), A. Kondo, “Development of dynamic metabolic profiling of cyanobacteria and microalgae”, 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit 2014 (AOAIS 2014), Hotel ICC, Daejeon, Korea, 2014. Nov. 17-20.
 39. A. Kondo (Kobe Univ.), “Development of Biorefinery from Microalgae and Cyanobacteria”, 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit 2014 (AOAIS 2014), Hotel ICC, Daejeon, Korea, 2014. Dec. 15.
 40. A. Kondo (Kobe Univ.), “Development of Microbial Cell Factories for Biorifinerries”, 5th ICBE—International Conference on Biomolecular Engineering, Hyatt Regency Lost Pines, Texas, USA, 2014. Jan. 11-14.
 41. A. Kondo (Kobe Univ.), “Development of Microbial Cell Factories for the Production of Bio-fuels and Bio-based Chemicals through Consolidated bioprocessing”, Biosystems Design 1.0, Matrix Level 4, Biopolis, Singapore, 2015. Feb. 9-10.

② 口頭発表（国内会議 35 件、国際会議 23 件）

（国内）

1. 平沢敬(大阪大), 古澤力, 清水浩, “シアノバクテリアのゲノムスケール代謝モデルを用いた代謝変動予測”, 第 4 回日本ゲノム微生物学会若手の会, 神戸, 2010 年 10 月 1-2 日
2. 古澤力(大阪大), 平沢敬, 小野直亮, 清水浩, “ゲノムスケール代謝モデルによる代謝フラックス予測とその実験的検証”, 第 62 回日本生物工学会大会, 宮崎, 2010 年 10 月 27-29 日
3. 吉川勝徳(阪大), 小嶋悠太, 古澤力, 平沢敬, 清水浩, “*Synechocystis* sp. PCC6803 株のゲノムスケール代謝モデルによる物質生産に向けた代謝予測”, 日本農芸化学会 2011 年度大会, 京都, 2011 年 3 月 25-28 日
4. 仲嶋翼(大阪大), 梶嶋秀一, 小嶋悠太, 吉川勝徳, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “¹³C-Glucose を用いた *Synechocystis* sp. PCC 6803 の代謝解析”, 日本農芸化学会 2011 年度大会, 京都, 2011 年 3 月 25-28 日
5. 秋本誠志 (神戸大), 横野牧生, 濱田文哉, 勅使河原彩香, 藍川晋平, 近藤昭彦, “時間分解蛍光分光法による藍藻 *Arthrospira platensis* の光環境適応の観測”, 第 52 回日本植物生理学会, 仙台, 2011 年 3 月 20-22 日
6. 梶嶋秀一(大阪大), 古澤力, 清水浩, “代謝フラックス解析のための汎用性の高いプログ

- ラムの開発”, 日本農芸化学会 2011 年度大会, 京都, 2011 年 3 月 25–28 日
7. 吉川勝徳(大阪大), 小嶋悠太, 仲嶋翼, 古澤力, 平沢敬, 清水浩, “*Synechocystis* sp. PCC 6803 株のゲノムスケール代謝モデルの構築と物質生産に向けた代謝予測”, 第 2 回日本光合成学会公開シンポジウム, 京都, 2011 年 6 月 3–4 日
 8. 秋本誠志 (神戸大), 横野牧生, 村上明男, 鞆達也, 土屋徹, 渡部和幸, 三室守, “シアノバクテリア *Prochlorococcus* におけるジビニルクロロフィルの励起緩和ダイナミクス”, 光合成の色素系と反応中心に関するセミナーXIX, 大阪, 2011 年 7 月 9–10 日
 9. 横野牧生 (神戸大), 鞆達也, 長尾遼, 伊藤寿, 田中歩, 秋本誠志, “*Prochlorococcus* に保存されている PSII D1 サブユニットのアミノ酸変異は励起エネルギーを CP47 へ迂回させる”, 光合成の色素系と反応中心に関するセミナーXIX, 大阪, 2011 年 7 月 9–10 日
 10. 邢新会 (清華大), 金丽华, 张雪, 方明月, 张翀, 葛楠, 王志斌, 李和平, 包成玉, “新型常压室温等离子体微生物诱变育种技术及其应用”, 2011 全国发酵工程研究与开发及综合应用技术研讨会, 杭州, 2011 年 9 月 20–22 日
 11. 吉川勝徳(大阪大), 小嶋悠太, 仲嶋翼, 古澤力, 平沢敬, 清水浩, “シアノバクテリアを用いた物質生産に向けたゲノムスケール代謝モデルによる代謝予測”, 第 63 回日本生物工学会大会, 東京, 2011 年 9 月 26–28 日
 12. 小川健一(大阪大), 吉川勝徳, 仲嶋翼, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “異なる栄養条件下でのシアノバクテリアの網羅的遺伝子発現解析”, 第 63 回日本生物工学会大会, 東京, 2011 年 9 月 26–28 日
 13. 梶嶋秀一(大阪大), 古澤力, 清水浩, “混合炭素源での代謝フラックス推定を可能とする解析ソフトウェアの開発”, 第 63 回日本生物工学会大会, 東京, 2011 年 9 月 26–28 日
 14. 仲嶋翼(大阪大), 梶嶋秀一, 吉川勝徳, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “光合成阻害剤が *Synechocystis* sp, PCC 6803 の代謝に与える影響の解析”, 第 63 回日本生物工学会大会, 東京, 2011 年 9 月 26–28 日
 15. 古澤力(大阪大), “¹³C 標識基質を用いた代謝フラックス解析とその応用”, 第 6 回メタボロームシンポジウム, 大阪, 2011 年 10 月 13–14 日
 16. 和泉自泰 (神戸大), 藍川晋平, 菊山文, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “メタボローム解析による次世代バイオエネルギー生産のための微細藻類代謝改変戦略の立案”, 第 6 回メタボロームシンポジウム, 大阪大学, 2011 年 10 月 13–14 日
 17. 清水浩(大阪大), “ゲノムワイドな代謝デザインと代謝フラックス評価”, 第 1 回 代謝工学研究会シンポジウム, 大阪, 2011 年 11 月 11 日
 18. 藍川晋平 (神戸大), 和泉自泰, 山田亮祐, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “シアノバクテリア *Arthrospira platensis* を炭素源としたアミラーゼ発現酵母による直接エタノール生産”, 日本農芸化学会 2012 年度大会, 京都, 2012 年 3 月 22–26 日
 19. Ancy Joseph (神戸大), Shimpei Aikawa, Tomohisa Hasunuma, Fumio Matsuda, Akihiko Kondo, “Metabolic pathway engineering in cyanobacteria *Synechocystis* sp.PCC 6803 for the production of lactate”, 日本農芸化学会 2012 年度大会, 京都, 2012 年 3 月 22–26 日
 20. 吉川勝徳(大阪大), 仲嶋翼, 小川健一, 梶嶋秀一, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “異なる栄養条件下における *Synechocystis* sp. PCC 6803 株のメタボローム, トランスクリプトーム, 代謝フラックスの統合解析”, 日本農芸化学会 2012 年度大会, 京都, 2012 年 3 月 22–26 日
 21. 李和平 (清華大), 邢新会, 张翀, 包成玉, “大气压射频辉光放电等离子体生物学效应研究进展”, 山东济南: 2012 年全国生物磁学会议, 2012 年 4 月 27–29 日
 22. 王志斌 (清華大), 乐沛思, 葛楠, 李和平, 吴昊, 卢元, 王立言, 张翀, 邢新会, 包成玉, “大气压射频辉光放电等离子体特性及其微生物诱变育种研究”, 山东济南: 2012 年全国生物磁学会议, 2012 年 4 月 27–29 日
 23. 李和平 (清華大), “PHSG 大气压气体放电等离子体研究进展”, 福建厦门: 两岸等离子体

- 科学及技术及应用研讨会, 2012年5月12-13日
24. 近藤昭彦(神戸大), “海洋性藻類からのバイオエタノール生産技術の開発”, 第32期工業材料ゼミナール, 京都リサーチパーク, 2012年5月16日
 25. Hiroshi Shimizu(大阪大), Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Naoki Ono, Katsunori Yoshikawa, Yoshihiro Toya. “Systems Metabolic Engineering –Rational Design of Microbial Cell Factories”, 第64回日本生物工学会大会, 神戸, 2012年10月23-26日
 26. 仲嶋翼(大阪大), 梶嶋秀一, 吉川勝徳, 古澤力, 平沢敬, 清水浩, “光独立栄養条件における *Synechocystis* sp. PCC 6803 の代謝フラックス解析”, 第64回日本生物工学会大会, 神戸, 2012年10月23-26日
 27. 藍川晋平(神戸大), 山田亮祐, 中西昭仁, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “シアノバクテリアを糖質源としたアミラーゼ発現酵母による同時抽出糖化発酵エタノール生産”, 日本農芸化学会 2013年度大会, 仙台, 2013年3月24-28日
 28. 近藤昭彦(神戸大), “微細藻類によるバイオリファイナーの構築”, 第15回マリンバイオテクノロジー学会大会, 沖縄, 2013年6月1-2日
 29. 仁木健太(神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “時間分解蛍光分光法によるシアノバクテリア *Synechococcus* sp. PCC7002 の栄養欠乏ストレスに対する適応の検討”, 第21回光合成セミナー, 名古屋, 2013年7月6-7日
 30. 秋本誠志(神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, “シアノバクテリアの光環境応答”, 第21回光合成セミナー, 名古屋, 2013年7月6-7日
 31. 山本亜美(神戸大), 横野牧生, 鞆達也, 土屋徹, 秋本誠志, “クロロフィル *d* を持つ藍藻 *Acaryochloris marina* における光捕集機能の解明”, 第7回分子科学討論会, 京都, 2013年9月24-27日
 32. 吉川勝徳(大阪大), 平沢敬, 清水浩, “微細藻類を用いたエタノール生産における malic enzyme の影響”, 日本農芸化学大会 2014大会, 東京, 2014年3月27-30日
 33. 藍川晋平(神戸大), 西田篤実, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “発酵生産プロセスのための海洋性ラン藻の利用”, 第16回マリンバイオテクノロジー学会大会, 三重大学生物資源学部, 三重, 2014年5月30-31日
 34. 秋本誠志(神戸大), 篠田稔行, Min Chen, Suleyman I. Allakhverdiev, 鞆達也, “Excitation energy transfer in thylakoid membranes from the chlorophyll *f*-containing cyanobacterium”, 第56回日本植物生理学会年会, 東京, 2015年3月16-18日
 35. 藍川晋平(神戸大), 猪熊健太郎, 佐々木建吾, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “アミラーゼ表層提示酵母によるシアノバクテリア *Arthrospira platensis* からの高濃度エタノール生産”, 日本農芸化学会 2015年度大会, 岡山大学津島キャンパス, 岡山, 2015年3月26-29日

(国際)

1. Chikara Furusawa (Osaka Univ.), Yohei Shinfuku, Natee Sorpitiporn, Masahiro Sono, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Flux balance analysis of *Corynebacterium glutamicum* using a genome-scale metabolic model”, Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009(APBioChEC'09), Hyogo, Japan, 2009. Nov. 26.
2. Tomohisa Hasunuma (Kobe Univ.), Shimpei Aikawa, Yoshihiro Izumi, Fumio Matsuda, Akihiko Kondo, “Development of bioethanol production from marine microalgae” 2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE'2010), Beijing, China. 2010. July 23-25.
3. Li-Hua Jin (Tsinghua Univ.), Ming-Yue Fang, Ge Nan, Pei-Si Le, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, Xin-Hui Xing, He-Ping Li, “Genome mutation of *Arthrospira platensis* for polysaccharide overproducing by a new tool of ARTP”, Proceedings of the International Conference On Biomass Energy Technologies (ICBT2010), Beijing, China, 2010. Aug. 20-22.
4. Nan Ge (Tsinghua Univ.), Pei-Si Le, Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Action effects of operating conditions of ARTP on *Arthrospira platensis* using different plasma-forming Gases”, Proceedings of ICBT 2010, Beijing, China, 2010. Aug. 20-22.
5. Li-Hua Jin (Tsinghua Univ.), Ming-Yue Fang, Ge Nan, Pei-Si Le, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang,

- Cheng-Yu Bao, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, “Genome mutation of *Spirulina platensis* for polysaccharide overproducing by ARTP”, The World Bionergy Symposium(WBS2010) , SuZhou, China, 2010. Sep. 15–17.
6. He-Ping Li (Tsinghua Univ.), Pei-Si Le, Nan Ge, Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, Cheng-Yu Bao, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, Xin-Hui Xing, “Studies on the application of radio-frequency atmospheric-pressure glow discharge plasmas in microbial mutation”, In: Proceedings of the International Workshop on Plasma Science and Applications, Xiamen, China, 2010. Oct. 25–26.
 7. Ming-Yue Fang (Tsinghua Univ.), Li-Hua Jin, Nan Ge, Pei-Si Le, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, Xin-Hui Xing, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Creation of *Arthrospira platensis* mutants by atmospheric and room temperature plasma (ARTP)”, Asian Congress on Biotechnology, Shanghai, China, 2011. May 11–15.
 8. Zhi-Bin Wang (Tsinghua Univ.), Nan Ge, Pei-Si Le, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Studies on the Uniformity of Atmospheric Radio-Frequency Gas Discharge Plasmas”, The 2011 International Graduate Forum on Biotechnology, Bioengineering and Biomedical Science (IGF3B-2011), Beijing, China, 2011. Aug. 27.
 9. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), “Systems Metabolic Engineering for Bioproduction Development”, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Hokkaido, Japan, 2011. Sep. 6–10.
 10. Hiroshi Shimizu (Osaka Univ.), Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Katsunori Yoshikawa, Naoaki Ono, “Genome Scale Metabolic Flux Design and Experimental Evaluation of Cellular Performance”, The 2nd iBioP Asian Symposium (iBioP2011), Pohang, South Korea, 2011. Dec. 14–16.
 11. Li-Hua Jin (Tsinghua Univ.), Yunyi Chen, Peixia Jiang, Chong Zhang, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, “Rapid Mutation and High Throughput Screening of Lipid-producing Yeast Using of Atmospheric and Room Temperature plasmas (ARTP)”, The 11th International Conference on Clean Energy (ICCE-2011), Taichung, Taiwan, 2011. Nov. 2–5.
 12. Ming-Yue Fang (Tsinghua Univ.), Li-Hua Jin, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, “Screening of polysaccharide high producing *Arthrospira platensis* rapid mutated by Atmospheric and Room Temperature Plasmas”, The 11th International Conference on Clean Energy (ICCE-2011), Taichung, Taiwan, 2011. Nov. 2–5.
 13. Qing Zhou (Tsinghua Univ.), Zhi-Bin Wang, He-Ping Li, Qie-Yue Nie, Qiang Chen, Cheng-Yu Bao, “Experimental studies on the electrical features of the radio-frequency atmospheric-pressure glow discharge arrays”, Proceedings of the XIX International on Gas Discharges and Their Applications, Tsinghua University, Beijing, China, 2012. Sep. 2–7.
 14. Di Yan (Tsinghua Univ.), Zhi-Bin Wang, Nan Ge, He-Ping Li, Feng Jin, Cheng-Yu Bao, “Influences of plasma working-gas compositions on the impedance of the atmospheric radio-frequency glow discharges”, Proceedings of the XIX International on Gas Discharges and Their Applications, Tsinghua University, Beijing, China, 2012. Sep. 2–7.
 15. Tomohisa Hasunuma (Kobe Univ.), “Development of sustainable biorefinery based on microalgae”, 5th International Conference on Industrial Bioprocesses (IFIB-2012), National Taiwan University of Science and Technology, Taipei, Taiwan, 2012. Oct. 7–11.
 16. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), Tomohisa Hasunuma, “Development of microbial cell factories for bio-refinery”, Internatinal meeting of the Microbiological Society of Korea, Chonbuk National University, Jeonju, Korea, 2013. May 1–3.
 17. Zhi-Bin Wang (Tsinghua Univ.), Xiao-Fei Zhang, Qiu-Yue Nie, He-Ping Li, Pei-Si Le, Cheng-Yu Bao, “Influences of gas flow on the features of a helium radio-frequency atmospheric-pressure glow discharge”, The 4th Asian Symposium on Computational Heat Transfer and Fluid Flow, Hong Kong SAR, China, 2013. June 3–6.
 18. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Development of microbial cell factories for sustainable biorefineries”, AIChE annual meeting 2013 International Forum: Biotechnology in South Korea and Japan, San Francisco, USA, 2013. Nov. 3–8.
 19. Ginga Shimakawa (Kobe Univ.), Chikahiro Miyake, “Production and detoxification mechanisms of methylglyoxal in photosynthetic organisms”, Glyoxalase Centennial: 100 Years of Glyoxalase Research and Emergence of Dicarbonyl Stress, Coventry, UK, 2013. Nov. 27–29.
 20. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Development of microbial cell factories for bio-refinery through

- synthetic bioengineering”, Asian Congress on Biotechnology 2013, New Delhi, India, 2013. Dec. 15–19.
21. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), “Multi-omics analysis of high-light tolerant strain of *Synechocystis* sp. PCC6803”, Asian Congress on Biotechnology 2013, Delhi, India, 2013. Dec. 15–19.
 22. Akihiko Kondo (Kobe Univ.), “Production of bio-based chemicals and fuels from biomass”, Korea-Japan Smart Biodesign Workshop: Technology exchange for green biotechnology, Sendai, Japan, 2014. Jan. 20–21.
 23. Tomohisa Hasunuma (Kobe Univ.), “Dynamic Metabolic Profiling of Cyanobacteria Under Conditions of Nitrate Depletion”, Metabolic Engineering X, Vancouver, Canada, 2014. June 15–19.

③ ポスター発表 (国内会議 48 件、国際会議 40 件)

(国内)

1. 藍川晋平 (神戸大), “海洋性珪藻 *Thalassiosira pseudonana* の光合成に対する培養光強度の影響について”, 生物工学会若手研究者の集い夏のセミナー2010, 岡山, 2010 年 7 月 3–4 日
2. 秋本誠志 (神戸大), 横野牧生, 多田愛, 濱田文哉, 山岸隆博, 川井浩史, “種々の藍藻における励起緩和ダイナミクス–時間分解蛍光分光法による観測–”, 第 48 回日本生物物理学会, 仙台, 2010 年 9 月 20–22 日
3. 小寫悠太(大阪大), 仲嶋翼, 古澤力, 平沢敬, 清水浩, “ゲノムスケール代謝モデルを用いた *Synechocystis* sp. PCC 6803 の代謝予測”, 第 62 回日本生物工学会大会, 宮崎, 2010 年 10 月 27–29 日
4. 藍川晋平 (神戸大), 和泉自泰, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “ラン藻 *Arthrospira (Spirulina) platensis* のグリコーゲン蓄積量と増殖速度に対する光強度の影響”, 第 62 回日本生物工学会大会, 宮崎, 2010 年 10 月 27–29 日
5. 和泉自泰 (神戸大), 藍川晋平, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “海洋性微細藻のシステムバイオロジー解析に向けての網羅的代謝プロファイリング技術の開発”, 第 62 回日本生物工学会大会, 宮崎, 2010 年 10 月 27–29 日
6. 濱田文哉 (神戸大), 横野牧生, 広瀬裕一, 村上明男, 秋本誠志, “ホヤに共生する藍藻 *Prochloron* における励起緩和ダイナミクス”, 若手フロンティア研究会, 神戸, 2010 年 12 月 24 日
7. 藍川晋平 (神戸大), 和泉自泰, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “光強度および窒素濃度調整による *Arthrospira platensis* のグリコーゲン生産量の向上”, 第 2 回日本光合成学会公開シンポジウム, 京都, 2011 年 6 月 3–4 日
8. 仲嶋翼(大阪大), 梶島秀一, 小寫悠太, 吉川勝徳, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “同位体炭素の分布を用いた *Synechocystis* sp. PCC 6803 の中央代謝モデルの検討”, 第 2 回日本光合成学会公開シンポジウム, 京都, 2011 年 6 月 3–4 日
9. 濱田文哉 (神戸大), 横野牧生, 広瀬裕一, 村上明男, 秋本誠志, “シアノバクテリア *Prochloron* における励起エネルギー移動”, 光合成の色素系と反応中心に関するセミナー-XIX, 大阪, 2011 年 7 月 9–10 日
10. 神戸えりな (神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の強光応答”, 光合成の色素系と反応中心に関するセミナー-XIX, 大阪, 2011 年 7 月 9–10 日
11. 李和平 (清華大), 乐沛思, 王志斌, 葛楠, 聂秋月, 杨安, 陈国旭, 吴贵清, 哈利德, 包成玉, “大气压射频辉光放电机理的一维数值模拟研究”, 中国物理学会 2011 年秋季学术会议, 浙江杭州, 2011 年 9 月 15–18 日
12. 濱田文哉 (神戸大), 横野牧生, 広瀬裕一, 村上明男, 秋本誠志, “種々のホヤ中における藍藻 *Prochloron* の励起緩和ダイナミクス”, 第 5 回分子科学討論会, 札幌, 2011 年 9 月 20–23 日

13. 神戸えりな (神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “ピコ秒時間分解蛍光分光法によるシアノバクテリアの強光応答に関する研究”, 第 5 回分子科学討論会, 札幌, 2011 年 9 月 20-23 日
14. 神戸えりな (神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “蛍光分光法によるシアノバクテリアの強光応答の波長依存性”, 若手フロンティア 2011, 神戸, 2011 年 12 月 22 日
15. 秋本誠志 (神戸大), 横野牧生, 濱田文哉, 勅使河原彩香, 藍川晋平, 近藤昭彦, “種々の光環境下で生育した藍藻 *Arthrospira platensis* におけるエネルギー移動過程-時間分解蛍光分光法による解明-”, 第 53 回日本植物生理学会年会, 京都, 2012 年 3 月 16-18 日
16. 横野牧生 (神戸大), 高林厚史, 栗原克宜, 田中歩, 秋本誠志, “BN-PAGE により精製された光合成反応中心の時間分解蛍光スペクトルの測定”, 第 53 回日本植物生理学会年会, 京都, 2012 年 3 月 16-18 日
17. 吉川勝徳(大阪大), 仲嶋翼, 小川健一, 梶島秀一, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “異なる栄養条件下における *Synechocystis* sp. PCC 6803 株のマルチオミクス解析”, 第 53 回日本植物生理学会年会, 京都, 2012 年 3 月 16-18 日
18. 神戸えりな (神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の短期的な光適応機構”, 第 20 回光合成の色素系と反応中心に関するセミナー, 大阪, 2012 年 6 月 30 日-7 月 1 日
19. 仁木健太 (神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “シアノバクテリア *Synechococcus* sp. PCC 7002 の励起エネルギー移動過程に対する培地の影響”, 第 20 回光合成の色素系と反応中心に関するセミナー, 大阪, 2012 年 6 月 30 日-7 月 1 日
20. 张晓菲 (清華大), 王志斌, 乐沛思, 聂秋月, 李和平, 包成玉, “氮气含量对氮-氮混合气体大气压射频辉光放电特性影响的一维数值模拟研究”, 广州: 中国物理学会 2012 年秋季学术会议, 2012 年 9 月 20-23 日
21. 小川健一(大阪大), 吉川勝徳, 清水浩, “*Synechocystis* sp. PCC 6803 における進化実験による強光ストレス耐性株の獲得”, 第 54 回日本植物生理学会年会, 岡山, 2013 年 3 月 21-23 日
22. 豊島正和 (神戸大), 山岸隆博, 近藤昭彦, 川井浩史, “*Arthrospira (Spirulina) platensis* の遺伝子組み換え技術の開発にむけて”, 日本藻類学会第 37 回大会, 山梨, 2013 年 3 月 28-29 日
23. 藍川晋平 (神戸大), 山田亮祐, 和泉自泰, 山岸隆博, 松田史生, 川井浩史, Jo-Shu Chang, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “シアノバクテリアからの直接バイオエタノール変換技術の開発”, 第 4 回日本光合成学会, 名古屋, 2013 年 5 月 31 日-6 月 1 日
24. 小川健一(大阪大), 吉川勝徳, 清水浩, “適応進化実験による強光耐性株の獲得と遺伝子発現解析”, 光合成学会, 名古屋, 2013 年 5 月 31 日-6 月 1 日
25. 山本亜美 (神戸大), 横野牧生, 鞆達也, 土屋徹, 秋本誠志, “時間分解分光法による藍藻 *Acaryochloris marina* における光捕集機能の解明”, 第 21 回光合成セミナー, 名古屋, 2013 年 7 月 6-7 日
26. 仲嶋翼(大阪大), 梶島秀一, 吉川勝徳, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “シアノバクテリアの光合成代謝の定量”, 生物学若手研究者の集い, 宮崎, 2013 年 7 月 13-14 日
27. 藍川晋平 (神戸大), 秋本誠志, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “海水中のイオン濃度が糖質源 *Spirulina* の増殖・光合成に与える影響”, 第 65 回日本生物工学会大会, 広島, 2013 年 9 月 18-20 日
28. 西田篤実 (神戸大), 藍川晋平, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “海洋性シアノバクテリアによるバイオリファイナーリーのためのグリコーゲン生産”, 第 65 回日本生物工学会大会, 広島国際会議場, 2013 年 9 月 18-20 日
29. 吉川勝徳(大阪大), 小川健一, 清水浩, “*Synechocystis* sp. PCC 6803 の強光耐性株の獲得とマルチオミクス解析”, 第 65 回生物工学会, 広島, 2013 年 9 月 18-20 日
30. 仲嶋翼(大阪大), 梶島秀一, 吉川勝徳, 松田史生, 平沢敬, 古澤力, 清水浩, “シアノバ

- クテリアの代謝フラックス解析における推定精度の信頼区間評価”, 第 65 回生物工学会, 広島, 2013 年 9 月 18–20 日
31. 日浅夏希(大阪大), 吉川勝徳, 清水浩, “*Synechocystis* sp. PCC 6803 の TCA バイパス経路の解明”, 第 65 回生物工学会, 広島, 2013 年 9 月 18–20 日
 32. Muhammad Arba (Kobe Univ.), Shimpei Aikawa, Kenta Niki, Makio Yokono, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Differences in excitation energy transfer of *Arthrospira platensis* cells grown in seawater medium and freshwater medium, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy”, 京都, 2013 年 9 月 24–27 日
 33. 仁木健太 (神戸大), 横野牧生, 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “栄養欠乏ストレス条件下でのシアノバクテリア *Synechococcus* sp. PCC7002 の励起エネルギー移動過程の観測”, 京都, 2013 年 9 月 24–27 日
 34. 藍川晋平 (神戸大), Joseph Ancy, 佐々木健吾, 寺村浩, 蓮沼誠久, 松田史生, 小山内崇, 平井優美, 近藤昭彦, “メタボローム解析によるシアノバクテリアの転写制御因子 Rre37 の機能解明”, 第 8 回メタボロームシンポジウム, 福岡, 2013 年 10 月 3–4 日
 35. 藍川晋平 (神戸大), 秋本誠志, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “マグネシウムイオンがラン藻 *Arthrospira platensis* の光合成電子伝達に及ぼす影響”, ラン藻の分子生物学 2013, 千葉, 2013 年 11 月 22–23 日
 36. 近藤昭彦 (神戸大), 清水浩, 邢新会, 川井浩史, 秋本誠志, 三宅親弘, 張嘉修, “海洋性藻類からのバイオエタノール生産技術の開発”, 「二酸化炭素排出抑制に資する革新的技術創出」第 5 回公開シンポジウム, 東京, 2014 年 1 月 31 日
 37. 曾根辻諒彦 (神戸大), 藍川晋平, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “代謝工学的手法によるグリコーゲン高生産藍藻の創製”, 第 16 回化学工学会学生発表会, 大阪, 2014 年 3 月 1 日.
 38. 豊島正和 (神戸大), 山岸隆博, 近藤昭彦, 川井浩史, “*Arthrospira platensis* NIES-39 の制限酵素系とメチラーゼ遺伝子を用いた遺伝子導入の試み”, 日本藻類学会第 38 回大会, 船橋, 2014 年 3 月 15–16 日
 39. 日浅夏希(大阪大), 吉川勝徳, 清水浩, “*Synechocystis* sp. PCC 6803 の TCA バイパス経路の解明”, 第 55 回日本植物生理学会年会, 富山, 2014 年 3 月 18–20 日
 40. Kenta Niki (神戸大), Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto (Kobe Univ.), “Excitation energy transfer in *Synechococcus* sp. PCC 7002 cells grown in brackish medium and seawater medium, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy”, 第 55 回植物生理学会, 富山, 2014 年 3 月 18–20 日
 41. 豊島正和 (神戸大), 山岸隆博, 近藤昭彦, 川井浩史, “好アルカリ性シアノバクテリア *Arthrospira platensis* NIES-39 の DNA メチラーゼを利用した遺伝子導入の試み”, 日本光合成学会第 5 回大会, 奈良, 2014 年 5 月 30–31 日
 42. 植野嘉文 (神戸大), 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “異なる光質下で培養された紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のエネルギー移動過程”, 光合成セミナー2014: 反応中心と色素系の多様性, 名古屋, 2014 年 7 月 12–13 日
 43. 大西亜弥 (神戸大), 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “時間分解蛍光分光法を用いた *Anabaena variabilis* の窒素欠乏条件下におけるエネルギー移動過程の観測”, 光合成セミナー2014: 反応中心と色素系の多様性, 名古屋, 2014 年 7 月 12–13 日
 44. 藍川晋平 (神戸大), 猪熊健太郎, 佐々木建吾, 蓮沼誠久, 近藤昭彦, “アミラーゼ表層提示酵母によるラン藻スピルリナからの高濃度エタノール生産”, 第 66 回日本生物工学会大会, 札幌, 2014 年 9 月 9–11 日
 45. 植野嘉文 (神戸大), 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のエネルギー移動の培養光質依存性”, 若手フロンティア研究会 2014, 神戸, 2014 年 12 月 25 日
 46. 大西亜弥 (神戸大), 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “窒素欠乏条件下における励起エネルギー移動過程の変化”, 若手フロンティア研究会 2014, 神戸, 2014 年 12 月 25 日
 47. 大西亜弥 (神戸大), 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “Energy transfer changes in *Anabaena*

variabilis filaments under nitrogen depletion”, 第 56 回日本植物生理学会年会, 東京, 2014 年 3 月 16–18 日

48. 植野嘉文 (神戸大), 藍川晋平, 近藤昭彦, 秋本誠志, “Long-term light adaptation of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy”, 第 56 回日本植物生理学会年会, 東京, 2014 年 3 月 16–18 日

(国際)

1. Chikara Furusawa (Osaka Univ.), Yuta Kojima, Takashi Hirasawa, Naoki Ono, Tsubasa Nakajima, Hiroshi Shimizu, “Development and Experimental Verification of a Genome-Scale Metabolic Model for *Synechocystis* sp. PCC6803”, International Symposium on Microalgal Biotechnology, Tokyo, Japan, 2010. May 31.
2. Pei-Si Le (Tsinghua Univ.), He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “One-dimensional modeling on the radio-frequency, atmospheric-pressure glow discharges in helium-nitrogen mixtures”, In: Proceedings of the 37th IEEE International Conference on Plasma Science (ICOPS), Norfolk, VA, USA, 2010. June 20–24.
3. He-Ping Li (Tsinghua Univ.), Li-Yan Wang, Guo Li, Hong-Xin Zhao, Nan Ge, Li-Hua Jin, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Effects of an helium atmospheric glow Discharge on the oligonucleotides”, In: Proceedings of the 10th Asia-Pacific Conference on Plasma Science and Technology, Jeju, Korea, 2010. July 4–8.
4. Ming-Yue Fang (Tsinghua Univ.), Li-Hua Jin, Nan Ge, Pei-Si Le, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, Xin-Hui Xing, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “Rapid mutation of *Arthrospira platensis* genomes by atmospheric and room temperature plasmas”, Proceedings of ISABE2010, Beijing, China, 2010. July 23–25.
5. Pei-Si Le (Tsinghua Univ.), Nan Ge, Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, He-Ping Li, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Characteristics of the atmospheric and room temperature plasmas used for the mutation of *Arthrospira platensis* genomes”, In: Proceedings of 2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE’ 2010), Beijing, China, 2010. July 23–25.
6. Shimpei Aikawa (Kobe Univ.), Yasuhiro Kashino, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, “The influences of cultivated light intensity to photosynthesis of marine diatom, *Thalassiosira pseudonana*. 2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE’2010). Beijing Friendship Hotel, Beijing, China. 2010. July. 23–25.
7. Xin-Hui Xing (Tsinghua Univ.), Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, Na Ge, Pei-Si Le, Li-Yan Wang, Guo Li, Zi-Liang Huang, Yuan Lu, Hong-Xin Zhao, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, He-Ping Li, Cheng-Yu Bao, “A new high throughput genome mutation tool for biofuel and biochemical production by creation of super microbes”, In: Proceedings of the International Conference on Biomass Energy Technologies (ICBT2010), Beijing, China, 2010. Aug. 21–23.
8. Sunisa Chaturachai (Osaka Univ.), Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, “De novo Pathway Design Platform for Exploring Biosynthetic Capacity in Genome Scale Model of Microorganisms as Cell Factories”, 9th International Conference on Bioinformatics (InCoB2010), Tokyo, Japan, 2010. Sep. 26–28.
9. Fumiya Hamada (Kobe Univ.), Makio Yokono, Euichi Hirose, Akio Murakami, Seiji Akimoto “Excitation energy transfer in chlorophyll-protein complexes of the unusual cyanobacterium, *Prochloron*”, Kobe University Molecular Photoscience Research Center International Symposium, Kobe, Japan, 2010. Oct. 9–10.
10. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Makio Yokono, Megumi Tada, Fumiya Hamada, Takahiro Yamagishi, Hiroshi Kawai, “Excitation relaxation dynamics of cyanobacteria, *Arthrospira* spp. and *Synechococcus* spp”, 6th Asian Photochemistry Conference, Wellington, New Zealand, 2010. Nov. 14–18.
11. Fumiya Hamada (Kobe Univ.), Makio Yokono, Euichi Hirose, Akio Murakami, Seiji Akimoto “Excitation relaxation dynamics of a chlorophyll *b*-containing cyanobacterium, *Prochloron*”, Wellington, New Zealand, 2010. Nov. 14–18.
12. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), Yuta Kojima, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Metabolic Flux Prediction by Genome-Scale Metabollic Model of *Synechocystis* sp. PCC 6803”, Asian Congress on Biotechnology(ACB-2011), Shanghai, China,

2011. May 11–15.
13. Makio Yokono (Kobe Univ.), Tatsuya Tomo, Ryo Nagao, Hiroshi Ito, Ayumi Tanaka, Seiji Akimoto, “Amino acid modifications improved excitation energy distribution in pigment-altered photosystem II reaction center”, 5th Asia and Oceania Conference for Photobiology, Nara, Japan, 2011. July 30–Aug. 1.
 14. Shuichi Kajihata (Osaka Univ.), Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, “Metabolic Flux meter (MFmeter): An Application to Construct Metabolic Models for ¹³C-tracer Metabolic Flux Analysis”, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Hokkaido, Japan, 2011. Sep. 6–10.
 15. Tsubasa Nakajima (Osaka Univ.), Shuichi Kajihata, Yuta Kojima, Katsunori Yoshikawa, Takashi Hirasawa, Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, “Effect of a Photosynthesis Inhibitor on Metabolic Flux Profile of Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803”, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Hokkaido, Japan, 2011. Sep. 6–10.
 16. Xue Zhang (Tsinghua Univ.), Li-Hua Jin, Chong Zhang, Xin-Hui Xing, “The Characteristic of ARTP mutation system using phenotypic diversity evaluation and umu test”, International Union of Microbiological Societies 2011 (IUMS2011), Hokkaido, Japan, 2011. Sep. 6–10.
 17. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), Yuta Kojima, Tsubasa Nakajima, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, “Metabolic engineering using genome-scale metabolic model for improvement of photosynthetic bioproduction”, The 2nd iBioP Asian Symposium (iBioP2011), Pohang, South Korea, 2011. Dec. 14–16.
 18. Masakazu Toyosima (Kobe Univ.), Shimpei Aikawa, Takahiro Yamagishi, Tomohisa Hasunuma, Hiroshi Kawai, Akihiko Kondo, “Ethanol production from the halophilic microalga *Arthrospira (Spirulina) platensis*”, International Algal Summit “Algae for Sustainable Development”, New Delhi, India, 2012. Feb. 21–22.
 19. Zhi-Bin Wang (Tsinghua Univ.), Nan Ge, Pei-Si Le, Li-Hua Jin, Ming-Yue Fang, Chong Zhang, Pei-Xia Jiang, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Physical features of an atmospheric helium glow discharge and its application for gene mutation breeding of microbes”, In: Proceedings of the 4 International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials (ISPlasma2012), Chubu University, Aichi, Japan, 2012. Mar. 4–8.
 20. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), “Systems biology in *Synechocystis* sp. PCC 6803”, Metabolic Engineering IX, Biarritz, France, 2012. June 3–7.
 21. Tsubasa Nakajima (Osaka Univ.), “Metabolic flux analysis of cyanobacteria on various trophic conditions”, Metabolic Engineering IX, Biarritz, France, 2012. June 3–7.
 22. He-Ping Li (Tsinghua Univ.), Zhi-Bin Wang, Nan Ge, Ming-Yue Fang, Li-Hua Jin, Chong Zhang, Xin-Hui Xing, Cheng-Yu Bao, “Numerical simulation of radio frequency atmospheric pressure glow discharges for the applications in the microbial genome mutation”, Proceedings of the 39th IEEE International Conference on Plasma Science, Edinburgh, Scotland, 2012. July 8–12.
 23. Qing Zhou (Tsinghua Univ.), Zhi-Bin Wang, Qiu-Yue Nie, He-Ping Li, Qiang Chen, Cheng-Yu Bao, “Studies on the electrical characteristics of a radio-frequency atmospheric-pressure plasma jet array”, Proceedings of the 39th IEEE International Conference on Plasma Science, Edinburgh, Scotland, 2012. July 8–12.
 24. Fumiya Hamada (Kobe Univ.), Makio Yokono, Euichi Hirose, Akio Murakami, Seiji Akimoto, “Energy transfer in a symbiotic cyanobacterium, *Prochloron*, probed by in hospite spectroscopic measurements”, The 14th International Symposium on Phototropic Prokaryotes, Porto, Portugal, 2012. Aug. 5–10.
 25. Erina Kobe (Kobe Univ.), Makio Yokono, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Energy transfer in the cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC 6803, under high-light conditions with different light qualities”, The 14th International Symposium on Phototropic Prokaryotes, Porto, Portugal, 2012. Aug. 5–10.
 26. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Makio Yokono, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Energy transfer in the cyanobacterium, *Arthrospira platensis*, under different light conditions, examined by time-resolved fluorescence spectroscopy”, The 11th Nordic Photosynthesis Congress, Turku, Finland, 2012. Sep. 11–14.

27. Makio Yokono (Kobe Univ.), Ryo Nagao, Tomo Tatsuya, Seiji Akimoto, “Excitation energy transfer and quenching in microalgae: PSII-FCP supercomplex possesses red chlorophylls related to quenching”, The 11th Nordic Photosynthesis Congress, Turku, Finland, 2012. Sep. 11–14.
28. Kenta Niki (Kobe Univ.), Makio Yokono, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Effects of nitrogen deficiency on excitation energy transfer in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002”, The 11th Nordic Photosynthesis Congress, Turku, Finland, 2012. Sep. 11–14.
29. Shimpei Aikawa (Kobe Univ.), Ryosuke Yamada, Takahiro Yamagishi, Jo-shu Chang, Tomohisa Hasunuma, Akihiko Kondo, “Direct conversion of cyanobacteria to ethanol without pretreatment or enzymatic hydrolysis process”, 3rd International Conference on Algal Biomass, Biofuels, and Bioproducts, Toronto, Canada, 2013. June 16–19.
30. Daisuke Takagi (Kobe Univ.), Yuji Suzuki, Katsumi Amako, Amane Makino, Toshio Sugimoto, Hiroshi Yamamoto, Hitoshi Fukayama, Chikahiro Miyake, “MAP-pathway is impaired in *PGR5* mutant of *Arabidopsis thaliana*”, Annual meeting of Plant Biology, Arizona, USA, 2013. July 20–24.
31. Ginga Shimakawa (Kobe Univ.), Hiroshi Yamamoto, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Suppression of respiration retard induction of photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803”, The 16th International Congress on Photosynthesis Research, Missouri, USA, 2013. Aug. 11–16.
32. Mayumi Suzuki (Kobe Univ.), Ginga Shimakawa, Hiroshi Yamamoto, Amane Makino, Chikahiro Miyake, “Scavenging Systems of Reactive Carbonyls: Aldo-Keto Reductases, Medium- and Short-chain Dehydrogenases/Reductases and Glyoxalases in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803”, The 16th International Congress on Photosynthesis Research, Missouri, USA, 2013. Aug. 11–16.
33. Hai-Bo Chang (Tsinghua Univ.), Xue Zhang, Chong Zhang, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, “Studies on the micro mechanisms of the Atmospheric Room Temperature Plasmas (ARTP) jet acting on bio-molecule in solution”, 2013 Asian Symposium on Innovative Bio-Refinery in Beijing, Beijing, China, 2013. Oct. 20–22.
34. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Makio Yokono, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Modification of energy-transfer processes in cyanobacteria to adapt light conditions, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy”, 6th Asia & Oceania Conference on Photobiology, Sydney, Australia, 2013. Nov. 10–13.
35. Katsunori Yoshikawa (Osaka Univ.), “Development and Multi-omics Analysis of High-light Tolerant Strain of *Synechocystis* sp. PCC 6803”, International Symposium on Microalgal Biofuels and Bioproducts, Tokyo, Japan, 2013. Nov. 21.
36. Aya Onishi (Kobe Univ.), Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Energy transfer in *Anabaena variabilis* filaments during heterocyst differentiation studied by time-resolved fluorescence”, Photosynthesis Research for Sustainability-2014, Pushichino, Russia, 2014. June 2–7.
37. Yoshifumi Ueno (Kobe Univ.), Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, Seiji Akimoto, “Light adaptation of the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*, proved by time-resolved fluorescence spectroscopy”, Photosynthesis Research for Sustainability-2014, Pushichino, Russia, 2014. June 2–7.
38. Haibo Chang (Tsinghua Univ.), Xue Zhang, Xiao-Fei Zhang, Chong Zhang, He-Ping Li, Xin-Hui Xing, “Simulation of cold atmospheric pressure plasma acting on aqueous solution for biotechnological applications”, Proceedings of 2014 International Symposium on Plasmas for Catalysis and Energy Materials, Tianjian, China, 2014. Sep. 13–16.
39. Seiji Akimoto (Kobe Univ.), Yoshifumi Ueno, Shimpei Aikawa, Akihiko Kondo, “Changes in light-harvesting and energy-transfer processes under different cultivation lights, probe by time-resolved fluorescence spectroscopy”, The 12th Nordic Photosynthesis Congress (NPC12), Uppsala, Sweden, 2014, Oct. 14–17.
40. Keiichiro Shaku (Kobe Univ.), Ginga Shimakawa, Masaki Hashiguchi, Chikahiro Miyake, “Flavodiiron protein oxidizes the photosynthetic electron transport system and promotes the photosynthesis in *Synechococcus elongates* PCC 7942”, 12th Nordic Photosynthesis Congress,

Uppsala, Sweden, 2014. Oct. 14–17.

(4) 知財出願

① 国内出願 (1 件)

1. エタノールの生産方法, 近藤昭彦, 蓮沼誠久, 藍川晋平, 国立大学法人神戸大学, 平成 22 年 6 月 8 日, 特願 2010-131364(P2010-131364)

② 海外出願 (0 件)

(5) 受賞・報道等

① 受賞

1. Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 (APBioChEC'09) Best Presentation Award. Chikara Furusawa, "Flux balance analysis of *Corynebacterium glutamicum* using a genome-scale metabolic model", 2009. Nov. 26.
2. ポスター賞, Ming-Yue Fang, "Rapid mutation of *Arthrospira platensis* genomes by atmospheric and room temperature plasmas", ISABE2010, Beijing, China, 2010. July 23–25.
3. Asia Pacific Bioinformatics Network Best Poster Award. Sunisa Chatsurachai, Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, "De novo Pathway Design Platform for Exploring Biosynthetic Capacity in Genome Scale Model of Microorganisms as Cell Factories", 2010. Sep. 26–28.
4. 若手フロンティア研究会 2010 優秀賞, 濱田文哉 (秋本グループ, 学生研究支援員), 神戸, 2010 年 12 月 24 日.
5. 文部科学大臣表彰 若手科学者賞, 古澤力. 2011 年 4 月
6. Asian Congress on Biotechnology (ACB-2011) Young Scientist and Student Outstanding Award, Katsunori Yoshikawa, Yuta Kojima, Chikara Furusawa, Takashi Hirasawa, Hiroshi Shimizu, "Metabolic Flux Prediction by Genome-Scale Metabolic Model of *Synechocystis* sp. PCC6803", Asian Congress on Biotechnology (ACB-2011), Shanghai, China, 2011. May 11–15.
7. 西宮湯川記念賞, 古澤力. 2011 年 11 月
8. 2012 年度発酵と代謝研究奨励金, 古澤力. "in silico 代謝フラックス予測システムの構築とその実験的検証", 2012 年 10 月 10 日, 日本バイオインダストリー協会
9. 第 1 回生物学学生優秀賞 (飛翔賞), 仲嶋翼, 2012 年 10 月 23 日
10. 第二回中国食品工業産学連携シンポジウムパイオニア研究者賞受賞, 邢新会, 2012 年 11 月 3 日
11. ポスター賞, 张晓菲, "氮气含量对氮-氮混合气体大气压射频辉光放电特性影响的一维数值模拟研究", 广州: 中国物理学会 2012 年秋季学术会议, 2012 年 9 月 20–23 日
12. 邢新会: 中国食品産業産学イノベーション"傑出研究者リーダー賞" (2012 年)
13. 2013 年度日本農芸化学会トピックス賞, 藍川晋平, 山田亮祐, 中西昭仁, 松田史生, 蓮沼誠久, 近藤昭彦. "シアノバクテリアを糖質源としたアミラーゼ発現酵母による同時抽出糖化発酵エタノール生産", 日本農芸化学会 2013 年度大会, 仙台, 2013 年 4 月 5 日
14. 2013 年 BBB 論文賞, Ancy Joseph, Shimpei Aikawa, Kengo Sasaki, Yota Tsuge, Fumio Matsuda, Tsutomu Tanaka, Akihiko Kondo, 2014 年 1 月 31 日.
15. ポスター賞, 嶋川銀河, 釋啓一郎, 三宅親弘, "ラン藻 Flavodiiron protein による Alternative electron flow の機能解明とその活性評価", 第五回日本光合成学会年会, 奈良, 2014 年 5 月 30–31 日
16. 日本バイオインダストリー協会 2013 年度 発酵と代謝研究奨励賞, 蓮沼誠久, 2013 年 10 月 9 日
17. 日本生物工学会 第 50 回 生物学奨励賞 (斎藤賞), 蓮沼誠久, 2014 年 9 月 9 日

② マスコミ（新聞・TV等）報道

1. 朝日新聞, 「光合成の謎解明に挑む」, 2010年4月14日
2. 日本経済新聞, 「バイオ素材から樹脂原料」, 2012年5月22日
3. 日本経済産業新聞, 「藻類からエタノールー改良酵母で工程短縮」, 2013年7月8日
4. Fuji Sankei Business I, 「システム代謝工学が拓く藻類細胞工場への道」, 2013年7月13日

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- 本研究で開発した代謝モデル・代謝予測技術について, 日本生物工学会代謝工学研究部会主催の技術交流会にて, 大学研究者や民間企業研究者に技術紹介・指導を行っている.
- 本プロジェクトで単離した海洋性藻類が高い油脂生産性を示したことから, 当該藻類を用いた油脂生産プロセスの開発が NEDO 事業「バイオマスエネルギー技術研究開発/戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業 (次世代技術開発)」に採択され, 現在実施中である. 課題名「海洋性緑藻による油脂生産技術の研究開発」(H24~27)

②社会還元的な展開活動

- 本研究で開発した代謝モデルは論文において公開している. また, 代謝モデルを用いた代謝予測技術について, 日本生物工学会代謝工学研究部会主催の技術交流会にて, 大学研究者や民間企業研究者に技術紹介・指導を行っている.

§5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2010年 7月23-25日	2010 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE'2010)	Friendship Hotel, Beijing, China	240人	国際学会(微藻類セッションを設けた)
2012年 10月25-29日	Microalgae Biotechnology Session in 2012 International Symposium on Advanced Biological Engineering (ISABE2012)	Waterfall Hotel, Guilin, China	200人	本研究プロジェクトの代表者と主要研究者が参加し、研究報告と同時に、今後の共同研究の仕組みと計画を打ち合わせた。
2013年 10月21-22日	2013 Asian Symposium on Innovative Bio-Refinery in Beijing	北京	70人	関連研究成果発表

§6 最後に

本研究では、海洋や湖沼の水面を利用して閉鎖的に、また低コストで多細胞性のシアノバクテリア *Arthrospira platensis* の大量育成・回収を行う手法の開発を行った。日本の温帯域・亜熱帯域で行った培養結果からトウモロコシよりも、*A. platensis* の藻体生産量が高いことがわかった。またフィルターを用いて容易に藻体を回収できたこと、希釈した海水を利用できたことから、他の微細藻類よりも低コストに培養・回収できる有望なバイオマスであることが明らかとなった。

また、常圧常温プラズマによって、高効率に変異を導入できる手法を開発し、本手法を用いて、光合成機能や耐塩機構を強化した変異体の作出に成功した。今後、変異体のメタボローム解析やトランスクリプトーム解析を行い、微細藻類の光合成機能・耐塩性変異機構を解析する予定である。

また、異なる光質環境および高塩濃度環境での光合成機能・代謝制御の研究を通して、高生産性微細藻類創製および大量育成技術開発に関する重要な知見を得ることができた。今後、これらの知見を生かして、新規微細藻類の創製および大量培養技術の開発を進めたい。

そして、代謝予測システム、代謝フラックス解析を統合した微細藻類のシステムバイオ解析技術の開発に成功した。また、それらの技術を用いた代謝解析の結果、これまで、トランスクリプトームやメタボロームなどから間接的に推測されてきた代謝の変化は、実際の代謝フラックス変化を必ずしも説明しないことが示され、細胞の代謝の理解には代謝の流れを直接計測し、議論できる代謝フラックス解析が本質的に重要であることが示された。本研究で開発した二酸化炭素を用いた微細藻類の代謝フラックス解析手法は、非定常安定同位体解析を開発することが必須で技術的ハードルが高く、本グループを含め世界で 2 研究グループにおいて報告されているのみであり、微細藻類における世界最先端技術である。これらの技術は、微細藻類の代謝の理解を進め、微細藻類を用いた物質生産のさらなる向上に今後大きく貢献すると期待される。

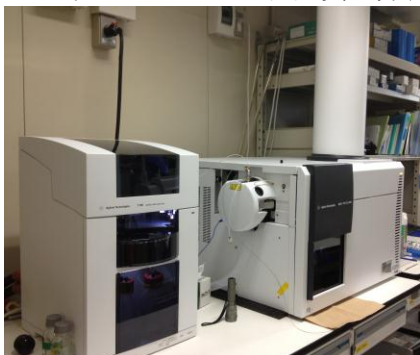
さらに従来のエタノール生産プロセスよりも低コスト、低環境負荷かつ高収率なエタノール生産プロセスの開発に成功した。細胞表層工学技術によってアミラーゼを発現させた酵母の作出、ラン藻細胞からのグリコーゲン抽出法の開発により、抽出・糖化・発酵を統合した一貫プロセスを考案した。本プロセスはコストのかかる前処理プロセスを省略することで、大幅な低コスト化に成功した。本研究で開発したプロセスは従来の藻類からのエタノール生産の中で、最もシンプルかつ高生産であり、今後よりさらに開発を進める予定である。

- 実験室や研究設備のスナップ写真
- ・ラン藻の培養風景（近藤グループ）

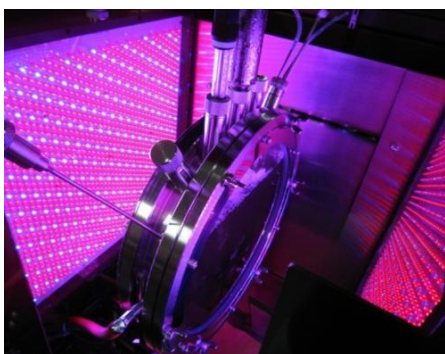
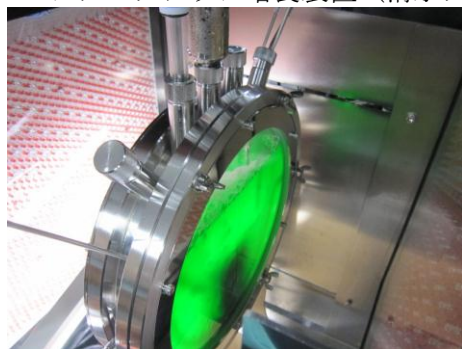
http://www.kobe-u.ac.jp/info/public-relations/movie/ja_index.html



- ・キャピラリー電気泳動/質量分析系（CE/TOFMS）（近藤グループ）



- ・シアノバクテリア培養装置（清水グループ）



・代謝フラックス解析実験（清水グループ）



・時間分解蛍光スペクトル測定装置（秋本グループ）

