

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「藻類・水圏微生物の機能解明と制御による  
バイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」  
研究課題  
「海洋ハプト藻類のアルケン合成経路の解明と  
基盤技術の開発」

研究終了報告書

研究期間 平成23年4月～平成28年3月

研究代表者：白岩 善博  
(国立大学法人筑波大学生命環境系・教  
授・学長補佐(特命：環境))

## §1 研究実施の概要

### (1)実施概要

中生代白亜紀を中心に原油、天然ガスや石灰岩形成に寄与したとされる海洋ハプト藻・円石藻類は、乾燥重量の 20-30%を占める脂質アルケン(超長鎖不飽和ケトン)を生産する。そのアルケンについて、合成分子種の制御や合成量のさらなる強化を実現し、海水を利用するバイオ燃料や原油代替(バイオリファイナリー)原料、さらに Drop-in-Fuelとして使用可能なジェット燃料等の生産を人工的に強化するための基盤技術の開発を目的として研究を行った。

将来、それらを実現するための大量バイオマス・物質生産時に、その不足が重大な環境問題と懸念される「淡水を使用しない」ことや「海水中の栄養分をリサイクル活用できる」ことに加え、原油生産の起源藻類を活用することで、代替原料としての活用が既に証明されていることが優位性として挙げられる。本研究課題では、個々の実験項目において、筑波大学・白岩グループが培養、代謝、遺伝子、メタボロミクス等を、北海道大学・沢田グループが長鎖脂質の化学組成の同定、定量解析、分析法の構築等を分担する密な共同研究の形で目的を達成する成果を挙げたものであり、それらを共著論文として発表した。

まず、藻類メタボローム解析技術の開発を成し遂げそれを確立した。また、世界中のカルチャーコレクションからハプト藻株を入手・培養し、アルケンおよびアルケン分子種の同定と含有量の定量的評価を成し遂げ、最適株の選抜に成功した。スクリーニングの結果、炭素数 29 のアルケン分子(C<sub>29:2</sub>炭化水素)を生産する 2 種類のハプト藻類円石藻を新規に発見した。さらに、アルケンとアルケンの組成比が異なる特徴的な藻類株の取得にも成功した。本成果は、さらに短いアルケン分子を生産する海洋性ハプト藻類新規株の取得や代謝改変により、少ない処理で直接燃料として利用できるオイル(Drop-in-Fuel)の生産株の開発の実現可能性を示した。そのため、多段階の改質過程を必要とするトリアシルグリセロール(TAG)を生産する他の多くの藻類株の利用とは一線を画す点で優位性がある。

酵素学的解析および放射性炭素 <sup>14</sup>C-トレーサー実験から、ハプト藻は CO<sub>2</sub> 吸収・固定の初期光合成段階に律速段階を有すること、低分子化合物への炭素蓄積が多く、中性糖 β-グルカンの合成は僅かで、最大増殖速度発揮時においても全固定炭素の約 17%を脂質(アルケン・アルケン)へと合成するアルケン合成藻類であることを明らかにした。次に、アルケン分子種の合成の制御や生産性のさらなる強化のための基盤技術の開発を行うため、トランスクリプトーム解析を行い、アルケン・アルケンの合成・分解に関与する候補遺伝子を抽出し、アルケン合成・分解系を推定した。さらに、アルケンの不飽和度を増大させる不飽和化酵素の候補遺伝子を見出した。また、GC-MS による高感度測定の結果から、C<sub>27:2</sub> アルケンを生産する円石藻株を新たに発見した。

アルケン生産ハプト藻類 *Tisochrysis lutea* (旧名: *Isochrysis galbana* T-iso) からアルケン蓄積細胞小器官(脂質体)の単離・精製に成功し、その脂質体の全タンパク質と全脂質組成をプロテオミクスとメタボロミクス技術による網羅的組成解析により解明した。その精製単離脂質体がアルケン(74%)に富むことから「アルケンボディ (AB)」と命名した。さらに、主な AB タンパク質が V-ATPase であること、ER 膜の発芽形式によりアルケンボディが形成される可能性を明らかにした。本成果により、新規の脂質体の存在を明らかにした。

海洋ハプト藻類円石藻 *Emiliania huxleyi* のゲノムプロジェクトに参画し、全ゲノム配列を決定した。ハプト藻類は膜構成成分と考えられる多価不飽和脂肪酸(オクタデカペンタエン酸 C<sub>18:5</sub>)を合成する稀有な特徴を有している。C<sub>18:5</sub> 合成能の系統的解析から、それは真核緑藻の起源となる生物が獲得しプラシノ藻へと受け継がれた一方、一次紅藻では獲得されず、二次植物(ハプト藻等)が誕生する進化過程で獲得されたものであることを明らかにした。また、当該株が必須脂肪酸ドコサヘキサエン酸(C<sub>22:6</sub>)の合成能が高い(全脂肪酸の約 25%、藻体乾燥重量の 2.4%)がエイコサペンタエン酸(C<sub>20:5</sub>)をほとんど蓄積しないことを見出し、DHA 生産藻類として活用が可能であることを示した。さらに、既知の酵素とは系統的に異なる新規の Δ15 fatty acid desaturase (カルボキシル基から数えて炭素番号 15 位に不飽和結合を形成する不飽和化酵素)を発見した。また、*E. huxleyi* から当該候補遺伝子を絞り出し、C<sub>18:5</sub> 合成能を有した

いシアノバクテリアに導入し発現させることに成功した。これはハプト藻類が有する特徴的な代謝系を他生物で成し遂げるための遺伝子利用に関する新たな技術開発である。

円石藻 *E. huxleyi* (最適株)によるバイオマス生産量は、乾燥重量で約  $1.65 \text{ g day}^{-1}$ 、アルケノン生産量は、約  $125 \text{ mg day}^{-1}$ (100L スケール培養)で、高密度培養技術と脂質生産割合を向上させるための最適化技術を開発中である。

本研究課題の遂行により、ハプト藻類における貯蔵脂質としてのアルケノン合成や脂肪酸合成系に関する代謝系の解明を初めて成し遂げた。さらに、アルケノン合成ハプト藻類が原油代替オイルの生産に優位性を有することを明らかにした点は、学術的知見の集積に加え、ハプト藻バイオマス活用の基盤技術の開発に寄与したと考えられる。

## (2) 顕著な成果

### < 優れた基礎研究としての成果 >

#### 1.

##### 概要:

藻類脂質分析法及び藻類脂質メタボロミクスとプロテオミクスの開発・最適化、データベースの構築を成し遂げた(その他の著作物-「国内」総説 2)。その結果、新規の C<sub>29</sub> アルケン合成株の取得に成功した(原著論文発表 6)。ハプト藻類から初めて脂質体の単離・精製に成功し、メタボロームとプロテオーム解析から、トリアシルグリセロール (TAG) を主成分とする他生物の脂質体の違いと主炭素貯蔵体としての機能を明らかにし、新用語「アルケノンボディ」を提唱した。この成果は生物学上の新知見を提供する価値の高いものである(原著論文発表 4)。

#### 2.

##### 概要:

「動物型」酵素として知られてきたピルビン酸カルボキシラーゼ(PYC)がハプト藻類円石藻 *E. huxleyi* の葉緑体で、リブローズ-1,5-ジリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) に続く 2 つ目の CO<sub>2</sub> 固定酵素として機能していることを発見した。PYC は、光合成器官においてアミノ酸合成(窒素化合物)と脂質・糖合成(炭素化合物)への炭素の流れを調整する機能があると推測される(原著論文発表 13)。さらに、円石藻 *E. huxleyi* が、他の藻類とは異なり、多糖(β-グルカン)ではなく、アルケノン・アルケンなどの脂質を貯蔵物質とすることを明らかにした。これらの結果により、ハプト藻の炭素代謝の独自性に関する生物学上の新知見を提供した(原著論文発表 5)。また、その独自の代謝経路の改変によるオイル生産能増強の改良ポイントに関する重要な知見を提供した。

#### 3.

##### 概要:

ハプト藻類円石藻 *E. huxleyi* のゲノムプロジェクトに参画し、全ゲノム解読に貢献した。その成果で得られたゲノム情報により、全海洋に広く生息するための環境適応性に寄与するパンゲノムの存在を真核生物で初めて明らかにした(原著論文発表 11)。さらにそのゲノム情報を活用して、二次植物である *E. huxleyi* の脂肪酸不飽和化酵素を原核生物シアノバクテリアで発現させる異種発現系を確立した(原著論文発表 7)。尚、本成果で得られたゲノム情報は、ハプト藻類円石藻の様々な解析や技術開発を可能とするとともに、海洋環境で競合的關係を示す珪藻との比較など、藻類生理学や地球環境変動による海洋エコシステムの解析に貢献している。

### < 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

#### 1.

##### 概要:

イオントラップ型質量分析計による海洋藻類のショットガンリピドミクスの技術開発に成功し、この手法を用いて、本研究対象である脂質代謝解析を可能にした。さらに、従来のメタボローム解析技術と合わせることで、光合成と呼吸系に関する代謝産物と代謝系の総合的・網羅的な解析が可能となった。本研究の技術開発により、大幅な感度の上昇が達成され、これまで報告された脂質種の約 10 倍の代謝中間体分子種の検出が可能となった。また、トランスクリプトミクスを組み合わせることで、新たな代謝系の推定が可能となった。これらの技術開発は、藻類のオイル生産にかかわる代謝中間体の解析を容易にし、新たな代謝産物の発見に寄与するイノベティブなツールとして利用可能であることを示した(その他の著作物-「国内」総説 2)。

#### 2.

##### 概要:

世界中のカルチャーコレクションからハプト藻株を入手・培養し、長鎖アルケン・アルケン分子種の同定と含有量の定量に成功した(未発表)。その結果、株によりアルケンとアルケン分子の組成と合成量(含有量)に大きな違いがあることを見出した。そして、アルケン合成最適株とアルケン合成最適株のそれぞれの株の選抜に成功した。特に、アルケン合成能が大きい株の選抜に成功したことから、化学プロセスによる分子改変を経ない燃料生産の可能性と、化学修飾反応に利用し易い直鎖分子の生産の可能性に道を開いた。さらに、北極海など高緯度海域からの単離株が低温耐性であることを見出し、寒冷地におけるアルケン利用のバイオ燃料生産の可能性を見出した(原著論文発表 2)。

### 3.

#### 概要:

C<sub>37</sub>の4不飽和アルケン生産卓越株の同定に成功した。長い炭素差に等間隔のトランス型二重結合が4個存在する構造で、触媒反応による二重結合切断により~C<sub>11</sub>炭化水素(ジェット燃料)を容易に生産することに貢献する成果である(原著論文発表 8)。

## §2 研究実施体制

### (1)研究チームの体制について

#### ①「筑波大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
白岩 善博	筑波大学 生命環境系	教授	H23.4～
鈴木 石根	同上	同上	H23.4～
岩本 浩二	(1)筑波大学企画室、 (2)マレーシア工科大学 (UTM)マレーシア・日本 国際工科院(MJIIT)	(1)准教授 (2)准教授	(1)H23.4～ (2)H26.9～ (MJIIT に出向)
古川 純	筑波大学 生命環境系	准教授	H23.4～
小林 正美	筑波大学 物質科学系	同上	H26.4～
新家 弘也	筑波大学 生命環境系	(1) 特任助教 (2) 助教	(1) H23.4～H27.6 (2) H27.7～
辻 敬典	(1)筑波大学生命環境系、 (2)関西学院大学 理工学 部 生命科学科	(1)研究員、 (2)助教	(1) H23.4～H27.3 (2) H27.4～
佐藤 真奈美	筑波大学 生命環境系	博士研究員	H23.4～H27.3
大井 信明	同上	同上	H23.8～H26.6
福田 真也	同上	同上	H23.10～H25.3
馬場 将人	同上	同上	H24.4～H25.2
埜 優	同上	同上	H26.4～
古田島 知則	(1)筑波大学大学院 生命 環境科学研究科 (2) 筑波大学 生命環境 系	リサーチアシスタ ント	(1) H23.4～H26.11 (2) H26.12～H27.3
Bakku Ranjith Kumar	筑波大学大学院 生命環 境科学研究科	同上	H26.4～
牧野 かおり	派遣職員	技術補助員	H25.8～H27.3
藤平 貴恵	同上	同上	H27.4～
牧島 亮男	北陸先端科学技術大学 院大学	シニアプロフェッ サー	H26.4～
三宅 幹夫	(1)北陸先端科学技術大 学院大学、 (2)マレーシア工科大学 (UTM)マレーシア・日本 国際工科院(MJIIT)	(1)教授 (2)教授	(1)H26.4～H27.3 (2)H27.4～H28.3
大坂 一生	北陸先端科学技術大学 院大学 ナノマテリアルテ クノロジーセンター	講師	H26.4～
宮里 朗夫	同上	技術職員	H26.4～

#### 研究項目

- A. 代謝改変のための基礎研究および基盤技術の開発
- B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケノン合成経路の解明
- C. 代謝改変によるアルケノン合成強化株の作成
- D. アルケノン合成の中間体のバイオリファイナリーとしての利用
- E. 高アルケノン生産株の選抜と培養及びアルケノン生産条件の最適化
- F. 陸上の湖沼における淡水性アルケノン合成藻類の探索・単離・培養

#### ② 「北海道大学」グループ

##### 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
沢田 健	北海道大学大学院 理学 研究院	准教授	H23.4～
中村 英人	同上	博士研究員	H23.4～
関 宰	北海道大学 低温科学研 究所	准教授	H26.7～

#### 研究項目

- B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケノン合成経路の解明
- D. アルケノン合成の中間体のバイオリファイナリーとしての利用
- E. 高アルケノン生産株の選抜と培養及びアルケノン生産条件の最適化
- F. 陸上の湖沼における淡水性アルケノン合成藻類の探索・単離・培養

#### (2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

1. 国際研究協力者として、英国グラスゴー大学地球科学部(Jaime Toney博士他)、カナダ・レジャイナ大学(Peter Leavitt教授他)の協力を得て、カナダにおける内陸湖沼におけるアルケノン生産微細藻類の探索を実施し、連携研究を継続中である。アルケノン生産微細藻類株としては、海洋起源の株のみが培養株として保存されているのみであり、本研究の推進によって、低温及び多種類の塩濃度条件下で増殖可能なアルケノン生産株を取得することが可能である。尚、CRESTの国際化支援経費の支援を得てスタートしたものである。
2. 英国グラスゴー大学エンジニアリング学部(Ian Watson博士、Reader)と連携して、新規バイオリアクターの開発と藻類バイオマスのガス化(Gasification)に関する国際研究協力をすでに開始している。
3. マレーシア工科大学(UTM)マレーシア・日本国際工科院(MJIIT)と筑波大学(白岩、鈴木など)が連携する研究ネットワークを構築し、国際連携研究協力を開始した。H27年からMJIITが中心となって推進する「マレーシア藻類研究開発センター」(マレーシア政府資金による事業)に対する協力をすでに開始した。それに関連して、白岩善博(CREST研究代表者・筑波大G)がMJIIT客員教授に任命され、協力関係を進めている(2015.9.1～2016.8.31更新可)。

## §3 研究実施内容及び成果

### 筑波大学 白岩グループ

#### 3.1 海洋ハプト藻類のアルケノン合成経路の解明と基盤技術の開発

##### (1) 研究実施内容及び成果

##### A. 代謝改変のための基礎研究および基盤技術の開発

##### (A-1) 貯蔵多糖の合成系の解明

アルケノンの合成量を増強するためには、貯蔵多糖合成への炭素フラックスを脂質・アルケノン合成に振り分けることが効果的と推測される。円石藻は、アルケノンに加え、 $\beta$ -グルカンや酸性多糖など、特有の物質を蓄積する。 $\beta$ -グルカンとアルケノンは、どちらも貯蔵物質であると推測されているが、光合成により固定された炭素が両者にどれくらいの比率で分配されるかは不明であった。そこで、 $\beta$ -グルカンの炭素フラックスをアルケノンに振り分けることが、アルケノン合成の促進につながるかを調べるため  $^{14}\text{C}$ -トレーサーにより、光合成で固定された  $^{14}\text{C}$  の、酸性多糖・ $\beta$ -グルカン・アルケノン・その他の脂質への分配比率を調べた。その結果、円石藻 *E. huxleyi* では、アルケノンへの炭素フラックスと比較すると、 $\beta$ -グルカンへの炭素フラックスは極めて少ないことが明らかになった。酸性多糖にもアルケノンと同程度の炭素が分配されたが、酸性多糖は円石の  $\text{CaCO}_3$  結晶に埋め込まれ、細胞外に排出されるため、貯蔵物質では無いと考えられる。以上の結果より、円石藻では  $\beta$ -グルカンへの炭素フラックスをアルケノンへ振り替えても、アルケノンの合成は促進されないと結論した(原著論文発表 5)。

多くの藻類では中性多糖を貯蔵物質として蓄積し、トリグリセリドなどの中性脂質の合成は、窒素欠乏による炭素フローの制御により合成される。しかし、ハプト藻による脂質アルケノン合成では、それとは異なる炭素蓄積・貯蔵様式が存在することが明らかとなった。光合成器官において、主要な炭素貯蔵物質が脂質である例はまれであり、その詳細な仕組みの解明は学術上大きな意味が生じてきた。

##### (A-2) 炭酸固定経路におけるボトルネック部位の解析

円石藻は、系統的に緑色植物とは大きく異なり、炭酸固定に関与するリブローズ-1、5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)や、グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼなどの起源が、緑色植物とは異なる。これら円石藻に特有の酵素について、*in vitro* での酵素学な解析を行い、光合成  $\text{CO}_2$  固定経路を律速するボトルネック部位を調べた。Rubisco について、基質に対する親和性や、 $\text{CO}_2$  固定活性と  $\text{O}_2$  固定活性の比を示す相対特異性(relative specificity:  $\tau$  値)を調べた結果、他の植物や藻類と比較し、 $\text{CO}_2$  に対する基質親和性が低いことを見出した。また、Rubisco の  $\tau$  値は、緑藻と同程度の 60 であることを明らかにした。この結果と、円石藻の光合成における無機炭素への親和性を測定した報告から、円石藻 *E. huxleyi* では、Rubisco が炭酸固定を律速していると結論した(原著論文発表 13)。

将来的に遺伝子改変によってアルケノンを増産するためには、Rubisco そのものを改変するか、あるいは Rubisco に  $\text{CO}_2$  を供給する無機炭素濃縮機構に関わる遺伝子を導入することが有効であることが明らかとなり、オイル生産性の向上に向けた技術開発の方向性を示した。

##### (A-3) アルケノン合成制御因子の解析



アルケノンの合成能を強化するためには、その合成・調節・不飽和化・蓄積に関わる酵素や細胞小器官を同定する必要がある。先行研究より、アルケノンが脂肪酸合成経路を介した炭素鎖伸長により合成されると示唆されている。そこで、種々の脂肪酸合成・伸長阻害剤を用い、アルケノン合成が阻害されるか確かめることで合成経路の推定を行った。また、*E. huxleyi* を低温下(15℃)で培養するとアルケノン分子中の不飽和結合の数が増加することが知られている。そこで、<sup>13</sup>C-トレーサー実験を行い、いつアルケノンの不飽和化が起こるのかを調べた。また、アルケノンを蓄積すると考えられている細胞小器官(アルケノンボディ)に含まれるタンパク質を調べることで、その蓄積機構の解明を目指した。

その結果、脂肪酸(～C<sub>16</sub>、C<sub>18</sub>)合成酵素の阻害剤であるセルレニンとトリクロサンを用いた阻害実験から、アルケノンが脂肪酸合成経路を経て合成されていることを示唆する結果を得た。また、超長鎖脂肪酸(C<sub>20</sub>～)伸長酵素の阻害剤であるカフェンストールにより、アルケノン合成が阻害されることを見出し、DTT が *cis* 型アルケンではなく、*trans* 型アルケン合成を阻害することを見出した。その際、放射性同位体 <sup>14</sup>C を用いた光合成炭素代謝の解析から、アルケノンおよび *trans* 型アルケンの前駆体様化合物の存在を発見した。

不飽和化については、<sup>13</sup>C-トレーサー実験を行い「3 不飽和型アルケノン C<sub>37:3</sub> は、3 不飽和型代謝中間体から新規合成される」という説を否定し、C<sub>37:2</sub> が不飽和化され C<sub>37:3</sub> となることを示した(未発表)。

ハプト藻類は膜構成成分と考えられる多価不飽和脂肪酸(オクタデカペンタエン酸 C<sub>18:5</sub>)を合成する稀有な特徴を有している。C<sub>18:5</sub> 合成能の系統的解析から、それは真核緑藻の起源となる生物が獲得しプラシノ藻へと受け継がれた一方、一次紅藻では獲得されず、二次植物(ハプト藻等)が誕生する進化過程で獲得されたものであることを明らかにした(原著論文発表「投稿済み・審査中の論文」2)。また、C<sub>18:5</sub> 合成に関与すると推定される4つの不飽和化酵素を見出し、その内の1酵素をシアノバクテリアを用いた異種発現解析により、新規の Δ15 不飽和化酵素と同定した(原著論文発表 7)。

最後に、アルケノン蓄積細胞小器官(脂質体)を単離・精製することに成功した。まず、その脂質体の組成が、アルケノン(74%)、アルケン(1%)、ステロールを含むその他の脂質(25%)から成ることを明らかにし、「アルケノンボディ」と命名した。さらに、Proteomics 解析から、主なアルケノンボディタンパク質は V-ATPase であることを明らかにし、ER 膜がその起源である可能性を示唆した(原著論文発表 4)。

永年未解明であったアルケノン合成やアルケン合成に影響のある阻害剤を新たに発見したことは、それら合成系の解明が期待できる大きな一歩である。また、アルケノンは2, 3, 4 不飽和型を有しているが、2 不飽和型が不飽和化され3 不飽和型になることが示されたことから、アルケノンの不飽和多型が複雑な代謝系を得ず、単純に2 不飽和型から派生していることを示唆した。更に、アルケノンボディは既知の脂質体とは大きく異なった脂質・タンパク質組成であり、アルケノン合成増加のためには既存の方法とは異なる方法をとる必要があることが示された。

#### (A-4) 円石藻における形質転換系の確立

遺伝子改変によるアルケノン増強株の作出と、アルケノン合成・代謝系の解明のため、ハプト藻での形質転換技術の開発を行った。まず、細胞が大きく遺伝子導入が容易と推測したアルケノン非合成種 *Pleurochrysis* (新属名 *Chrysolita*) *carterae* ゲノムから遺伝子発現に必要なプロモーターやターミネーターを単離し、*P. carterae* での外来レポーター遺伝子(GFP)の発現を試みた。しかし、形質転換体は得られなかった。次にアルケノン生産株であり、かつ高い増殖速度を持つ *Tisochrysis lutea* において、エレクトロポレーションによる GFP 遺伝子導入を試みた。しかし、形質転換

換体は得られなかった。また、*in vitro* 転写で合成した GFP をコードする mRNA の導入による一過的発現も試みたが GFP を発現する形質転換体は得られなかった。そこで、*E. huxleyi* のトランスクリプトーム解析により明らかにされた発現量の高い遺伝子のプロモーターを単離し、新規のベクターを構築した。また、遺伝子導入にパーティクルガン法を用い、ハプト藻類のアルケノン合成種である *T. lutea* および *E. huxleyi* の形質転換に取り組んだが形質転換体は得られなかった。更に、 $\beta$ -グルクロニダーゼ遺伝子の一過的発現のための条件検討を行いつつ、薬剤耐性遺伝子をマーカーとした安定的形質転換系に取り組んだ結果、*T. lutea* ではゼオシンと G418 が薬剤耐性マーカーとして利用できることがわかった。しかし、形質転換体は未だ得られていない。

## B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケノン合成経路の解明

### (B-1) 比較解析に使う株のスクリーニング

アルケノン合成経路の解明を目的とし、ハプト藻類の中でアルケノン合成することが知られている種に近縁で、アルケノン合成しない株を選別し、比較ゲノム解析によりアルケノン合成に関わる遺伝子の絞込みを目指した。また、アルケノン合成最適株とアルケノン合成最悪株の選抜を行った。選別に用いる円石藻・ハプト藻類 42 株を、ナショナルバイオリソースプロジェクト「藻類」のカルチャーコレクション(国立環境研)、National Center for Marine Algae and Microbiota、Roscoff Culture Collection から入手し、これらを含む計 62 株を筑波大学で培養した。アルケノンの有無及び脂質分子の種類については、北大グループが GC/MS を用いて分析し、それぞれの藻類株におけるアルケノン量を定量化し、合成能の有無を数値化して比較検討した。さらに、*E. huxleyi* の株間のゲノム比較解析を海外 Ehux ゲノム解析コンソーシアムの一員として参画し *E. huxleyi* の株間における遺伝的多様性が極めて大きいことを報告した(原著論文発表 11)。

更に、アルケノン合成能が大きい株の選抜に成功したことから、化学プロセスによる分子改変を経ない燃料生産の可能性と、化学修飾反応に利用しやすい直鎖分子の生産の可能性に道を開いた。

### (B-2) 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケノン合成経路の解明

既に遺伝子情報が公開されているハプト藻 *E. huxleyi* CCMP 2090 株を用い、比較メタボロミクス・トランスクリプトミクスによるアルケノン合成経路の解明を目的とした。低温下でアルケノンの不飽和数や合成量が増大することを明らかにし(未発表)、この知見を基に通常培養温度(25°C)から低温下(15°C)に移行した際の遺伝子発現量の変化を解析した。また、アルケノン合成における中間代謝産物を同定することで、アルケノン合成系を推測することを目指し、メタボロームの中でも特に脂質メタボロミクス技術に焦点を絞り、その基盤技術の確立と中間代謝産物の同定を行った。トランスクリプトミクスについては、アルケノン・アルケンの生合成に関与すると考えられる候補遺伝子を抽出した。そこから、アルケノンは脂肪酸を経て合成されていること、脂肪酸伸長によって合成されることが推定された。また、アルケノンの不飽和数を増す不飽和化酵素の候補を発見した(未発表)。

メタボローム解析では、 $10^7$ – $10^8$  細胞を低温下でメタノール：クロロホルム：水 = 1：2：0.8 で抽出し、抽出水溶性画分を用い、キャピラリー電気泳動・飛行時間型質量分析計(CE-TOF/MS)によるメタボローム解析法を、抽出油溶性画分を用い、イオントラップ型質量分析計(Ion Trap MS/MS<sup>n</sup>)によるショットガンリピドミクス解析法を確立した。その結果、カルビン回路・解糖系・TCA サイクル・アミノ酸生合成経路を網羅した 55 種類の代謝物の定性に成功した。さらに、 $10^7$ - $10^8$  細胞の一度の測定から、fatty-acyl-CoA・リン脂質 [Phosphatidylcholine (PC)・Phosphatidyl-ethanolamine (PE)・Phosphatidic acid (PA)・Phosphatidylglycerol (PG) ・ Phosphatidylinositols (PI) ・ Phosphatidylserine (PS)] ・ 糖脂質

[Monogalactosyldiglyceride (MGDG)・Di-galactosyldiglyceride (DGDG)・Sulfoquinovosyl diacylglycerols (SQDG)]・ジアシルグリセロール (DAG)・トリアシルグリセロール (TAG) 等の 15 主要脂質、150 脂質以上の分子種が脂質データベースより検出された。本法により *E. huxleyi* 脂質種のこれまでの報告に比べ、約 10 倍の脂質種が検出され、測定精度の大幅な向上が示された(その他の著作物-「国内」総説 2)。

これらの技術開発は、藻類のオイル生産にかかわる代謝中間体の解析を容易にし、新たな代謝産物の発見に寄与するイノベーティブなツールとして利用可能である。

### C. 代謝改変によるアルケン合成強化株の作成

形質転換に依存せずにアルケン高蓄積株を作出するため、*T. lutea* (旧名 *Isochrysis galbana* T-Iso 株)を用い重イオンビームによる変異誘発とアルケン高蓄積株のスクリーニングを行った。その結果、T-Iso 株に重イオンビームを照射したプレートから得られた 31 コロニーについて、アルケン合成量を調べた。そして、7 株(23%)でアルケン合成量の増加が見られ、さらに照射したプレートから得られた 59 株では、21 株(36%)でアルケン合成量の増加が見られ、最大で約 2 倍のアルケン合成量の増加を確認した。これら変異体から、アルケン合成量の増加した株と減少した株を含む 6 株についてトランスクリプトーム解析を行い、解析中である。

単細胞性藻類を用いた重イオンビームによる変異誘発は、パラクロレラを除いては報告が少なく、重イオンビームの有用性を示すと共に変異体解析によりアルケン合成系の解明への大きな手掛かりを得ることが可能となった。

### D. アルケン合成の中間体のバイオリファイナリーとしての利用

#### (D-1)長鎖脂肪酸のバイオリファイナリー

地中における原油生成を想定して、種々の微細藻類と熱帯鉱床から単離した好熱菌を共培養し、その後無酸素条件で熱分解した。その結果、藻体の脂質含量とオイル・メタン生産量が相関し、ハプト藻 *E. huxleyi* が原油成分と最も類似したアルカン分子の生産に寄与することを見出した(原著論文発表 10)。また、常温培養時において、塩濃度変化によりアルケンの不飽和度に顕著な変化が生じることを見出した(原著論文発表 12)。これらの成果は、アルケンをバイオ燃料として利用する場合の培養条件とオイルの化学特性の関係を示す重要なデータとなり、ハプト藻類がバイオ燃料生産の好適生物であることを証明したものである。

アルケン代謝の中間産物は、直鎖の脂肪酸あるいはそれに類似した化合物であると推測される。これらの脂質の構造決定を行い、それらがバイオ燃料、その他のバイオリファイナリー原料としてどのような利用が可能かについて検討した。*E. huxleyi* NIES 837 から精製したアルケン試料及び *E. huxleyi* CCMP 2090 から抽出したアルケン画分を、それぞれ JAIST にて FT-ICR MS を用いて高度精密分析を行った。その結果、アルケン、アルケン様物質 53 種を得た。

### E. 培養条件及びアルケン生産条件の最適化

実験室内での高密度の集積培養を可能とするための基礎的知見を蓄積するため、培養実験によって高い増殖速度を維持する培養条件を最適化し、大量培養技術の開発へ応用する必要がある。また、「(B-1) 比較解析に使う株のスクリーニング」において用意されたハプト藻株のうち、アルケン合成種を異なる温度条件で培養してアルケン蓄積量と組成を解析し、高アルケン生産株・特殊なアルケン組成を示す株を選抜するとともにアルケン高生産条件を探索した。

最適増殖温度は株によらず 17°C~20°C 付近であり、これら培養条件の成果の一部を原著論文 7 として公表した。アルケン合成量は至適増殖温度よりも数°C 低い温度で培養した場合に最大となることを見出した。また、ノルウェー沖やベーリング海など高緯度海域で採取された株から、低温でも最適温度の 4 割程度の増殖率を維持しながらアルケン合成が可能な低温耐性株を得る

ことに成功した。

それらを基にしたアルケノン生産の最適条件で 100L~200L スケールの培養に着手し、全有機炭素(TOC)計を用いてオイル生産性を定量的に解析し、オイル生産のための最適条件を調べた。細胞内の全有機炭素を測定すると、*E. huxleyi* (NIES 837 株)は細胞増殖の時期に関わらず、細胞あたり一定の有機炭素量を有していた。さらに、細胞内の全炭素に対するアルケノン炭素の割合は細胞が増殖すると上昇し、定常期で約 18%に達した。以上から、定常期まで生育した細胞からアルケノン抽出することが、オイル生産のための最適条件であると決定した。また、*E. huxleyi* (NIES 837 株)の 50-100L スケール培養の結果、定常期まで増殖した細胞のバイオマスは、乾燥重量で約  $16.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  であり、最適培養条件による 1 L スケール培養から想定される量の約 85%程度であった。以上の条件における 50-100L スケール培養でのアルケノン生産量は、約 1 g であり、オイル生産性は約  $1.25 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  であった。しかしながら、50-100L スケール培養を継続して行くと、アルケノン生産量が最大値の 20-30%の場合が存在し、まだ 50-100L スケール培養で安定して高い生産量のアルケノンを生産するに至っていない。

そのため、オイル生産に向けて培養条件の最適化を容易にするためのシステムづくりとして、FT-IR 法によるアルケノン簡易同定法および簡易定量法の開発を行った。*E. huxleyi* (NIES 837 株および CCMP 2090 株)細胞をシリコン性円形窓板上で 3 時間、80°Cの条件で乾燥させ、FTIR で解析すると、962.5 nm 付近に存在するピークを見出した。このピークはアルケノン合成をする他のハプト藻 *T. lutea*, *C. lamellosa* でも検出されるが、アルケノン合成をしないハプト藻 *Pleurochrysis carterae* では検出されなかった。さらに、このピークはアルケノン構造に特徴的な他の生物が有しないトランス二重結合に由来することを明らかにした。以上から、FTIR で無傷細胞を解析することで、簡便に合成されたアルケノンの有無を可視化できる技術を開発した。次に FTIR のスペクトルから炭水化物、タンパク質および脂質への炭素配分を定量化する技術は既に確立されていたので、それに加えてアルケノンへの炭素配分も定量化できるかを調べた。その結果、FTIR によるアルケノンへの炭素配分は、ガスクロマトグラフィーまたは原著論文発表 3 で示した  $^{14}\text{C}$ -トレーサー実験で得られたアルケノンへの炭素配分とほぼ一致するが分かった。したがって、アルケノンへの炭素配分は FTIR スペクトルから定量化できることを明らかにした。さらに FTIR によるアルケノンへの炭素配分と TOC 計で測定した細胞内全有機炭素量を基に計算することで、簡便にアルケノン量を定量化する技術を開発した。FT-IR 法によるアルケノン簡易同定法および簡易定量法は、アルケノン抽出ステップを経ない簡便な方法で、3 時間程度という短時間で解析が終了するので、特に大量培養におけるアルケノン合成のモニタリングに活用することで、高オイル生産に向けた培養条件の最適化のために大きく寄与できる。

## F. 陸上の湖沼における淡水性アルケノン合成藻類の探索・単離・培養

淡水性のアルケノン合成種が見つければ、これまで海洋ハプト藻類に限られていたアルケノン合成が淡水でも可能となり、バイオリクターによるオイル生産技術開発に新たな見解をもたらすことや、これまで謎とされてきた大陸内域におけるアルケノンや原油生産の仕組みの解明につながる。湖沼からの単離株についてアルケノンの有無を調べたところ、カナダサンプルの 3 箇所湖から単離した 7 株でアルケノンを検出することに成功した。しかし、アルケノン合成種を単離することに成功した湖は、全て塩湖であった。

今回、淡水性アルケノン種の発見には至らなかったが、今まで大陸内域で単離されたアルケノン合成種は塩湖から単離された *Chrysolita* (新属名:*Ruttnera*) *lamellosa* のみである。そのため、今回得られたアルケノン合成株の情報は、これまで謎とされてきた大陸内域におけるアルケノン生産種の解明やアルケノンの古水温計としての利用に大きく貢献できる。

### 3.2 アルケン合成および不飽和化の代謝制御と代謝産物の化学的解析

本グループの研究目的は、アルケン合成経路の中間代謝産物を同定し、アルケン合成経路の代謝経路およびその制御機構を明らかにすることである。そのため必要な、アルケン合成の中間代謝産物およびアルケン分子の精度の高い定量的解析を開発し、その技術を用いて代謝産物の定量解析を行う。さらに、筑波大グループにおいても、アルケン合成経路の中間代謝産物の分析が不可欠であるため、研究の進展に伴い定量分析が必要となる化合物の分析技術について、研究期間を通して、筑波大グループをサポートする役割を担う。

#### (1) 研究実施内容及び成果

#### B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケン合成経路の解明

##### (B-3) 代謝産物(炭化水素)の同定と構造の決定

アルケン合成経路の解明を目的とした比較メタボローム・トランスクリプトーム解析・比較ゲノム解析に供する株を選抜するため、筑波大学白岩グループで培養・回収されたスクリーニング対象株のアルケンの有無や脂質組成を GC/MS を用いて解析を行った。円石藻・ハプト藻類 62 株のうち既知のアルケン合成種でアルケン合成しない状態の株は発見されず、アルケンの有無のみに着目したスクリーニングは完了した。ひきつづき脂質組成の解析を進めたことで、アルケン合成種のアルケン・アルケノエイト・アルケン組成などの、アルケン合成種特有の代謝産物の網羅的なデータセットを得ることに成功した。既知のアルケン合成種を網羅した上で種ごとにも多数の株のデータを揃えた規模は先例がなく、この解析結果を 28 rDNA 配列に基づく系統樹と対比することで種レベルのアルケン組成の特徴が遺伝的差異と相関していることを見出した。また、中極性の長尺カラムを用いたアルケンの分離手法をアルケン・アルケノエイト分析に応用することで 3 不飽和アルケン・アルケノエイト二重結合位置異性体を複数検出した。これらの異性体は量的にはマイナーだが、ハプト藻アルケン合成種の属レベルで含有の有無など組成に特徴があり、環境中からのアルケン合成種の探索・推定に有用なバイオマーカーとなる可能性がある。4 不飽和アルケンは二重結合の開裂による短鎖炭化水素生成などの改質に有利と考えられるほか、二重結合を起点とした各種反応によるバイオリファイナリー原料として独特の分子種を与える。*C. lamellosa* のトランスクリプトームや近縁の 4 不飽和アルケン合成/非合成株との比較ゲノム解析によりアルケン不飽和化機構の全容を解明し、4 不飽和アルケン合成能を向上する代謝改変にも繋がる可能性がある。

#### D. アルケン合成の中間体のバイオリファイナリーとしての利用

##### (D-2) 長鎖・超長鎖アルケンの同定と構造決定

ハプト藻アルケン合成種は C<sub>31</sub>-C<sub>33</sub> の長鎖 *cis* 型アルケンや C<sub>37</sub>-C<sub>38</sub> のアルケンに似る超長鎖 *trans* 型アルケンをもつことが知られるが、その組成や含有量の種内・種間多様性は未解明であった。そこで、これら長鎖アルケンのアルケン合成との関連や、バイオ燃料・バイオリファイナリーとしてのポテンシャルを評価するための基礎的な知見を得るため、未知のアルケン分子種を含むハプト藻アルケン合成種の長鎖アルケンの同定と構造決定を行った。一方、*cis* 型アルケンは主に C<sub>31</sub> と C<sub>33</sub> からなり、その割合にも種内・種間で多様性がみられた。C<sub>29</sub> アルケンを主要な炭化水素として含む *E. huxleyi* NIES837 株および *G. oceanica* NIES1315 株を発見し、構造

決定により天然物として初報告の異性体を含む C<sub>29</sub> アルケン合成株として報告した(原著論文発表 6)。本成果は、海洋性ハプト藻類が生産する炭化水素分子を、更なる研究によって、更に短いアルケン分子を生産する株の取得や代謝改変、化学的改質により Drop-in-Fuel として利用できる可能性を示している。

### **(D-3)非アルキル脂質のバイオリファイナリーおよびアルケノンからの炭化水素変換の効率化**

ステロイドなどの非アルキル脂質もアルケノン合成株からハプト藻から検出されることがわかっているため、その詳細な同定・定量を行い、バイオリファイナリーとしての検討を行った。

ケトンであるアルケノンは、官能基をもたない炭化水素(*n*-アルカン、*n*-アルケン)に変換した方がバイオ燃料としての利便性が増す。そこで、アルケノンの熱分解実験を行い、それによって生成される化合物のバイオリファイナリーとしての利用を検討した。*E. huxleyi* の培養試料の熱分解実験を 280°C~350°Cまで様々な加熱時間の下で行い、アルケノンなどの脂質の分解過程を検討し、バイオ燃料生産への応用を検討した。凍結乾燥した *E. huxleyi* 培養試料と *E. huxleyi* から精製・単離した高純度アルケノンを用いた。さらに、ハプト藻の熱分解によるバイオ燃料生成の検討から、バイオ燃料となる炭化水素とともに短鎖~長鎖アルキルニトリルなど、生体には含まれない化合物が顕著に生成した。今後、様々な触媒系の分解反応を検討し、ハプト藻バイオ燃料生産における有用な手段を開発することでさらなる成果が期待される。

### **E. 高アルケノン生産株の選抜と培養及びアルケノン生産条件の最適化**

筑波大グループが提供する様々な条件下で培養したハプト藻株について、アルケノンおよび関連代謝産物の分析を行い、アルケノン高生産株を選抜した。スクリーニングと詳細な脂質組成解析の結果、イソクリシス科の株は脂質組成の多様性が高く、アルケノン高生産株や、4 不飽和アルケノン・C<sub>40</sub>アルケノンなどの特殊なアルケノン分子種合成株などを含むことが分かってきた。そのことから、イソクリシス科の複数の株について、温度条件によるアルケノン組成と生産量の関係を検討した。その際、従来 *Isochrysis* 属として記載されてきた株の一部が *Tisochrysis* 属であることを 28S rDNA 配列にもとづく系統樹を作成することで確かめた。これにより、両属の株間にみられたアルケノン生産量や組成の顕著な違いが、それぞれの属の脂質組成の特徴であることが明らかになった。*T. lutea* はアルケノン高生産を複数含むことから大量培養の有力な候補であり、*I. galbana* と比較して 5°C~10°C 程も高いさらに広い水温範囲(15~35°C)でもよく増殖し、高温による増殖率の低下を受け難いという生産上の利点がある。水温ごとのアルケノン組成変化を確かめたところ、低温では 3 不飽和卓越~高温では 2 不飽和卓越まで大幅に変化するが低温でも 4 不飽和アルケノンを合成しなかったことから不飽和度の低いアルケノン生産に向く。一方、*I. galbana* と *C. lamellosa* (改名:*R. lamellaosa*)は生育温度の全域で 3~4 不飽和アルケノンを高い割合で合成することから、より高不飽和度のアルケノン生産に向くことを確かめた。4 不飽和アルケノン高生産種 *C. lamellosa*株のアルケノン不飽和度と温度の関係を培養実験から確かめることで、既知のハプト藻種の中で最も 4 不飽和アルケノンを高い割合で生産する条件を明らかにした(原著論文発表 8)。塩濃度を変化させた場合には、*E. huxleyi* や *I. galbana* が海水と同程度の塩分で最もよく増殖したのに対して、*Chrysolita* 属は高塩分(~45%)で最もよく増殖し、アルケノン蓄積量も増加する特徴を見いだした。

### **F 陸上の湖沼における淡水性アルケノン合成藻類の探索・単離・培養**

淡水湖や塩湖の環境試料からアルケノンが検出され、海産種とは異なる多様なアルケノン合成藻類の存在が示唆されているが、*C. lamellosa* が塩湖から単離された例があるほかには、単離・培

養に成功していない。海産種とは大きく異なる培養条件でのアルケノン生産の可能性をもたらす。そのため新規株を確立し、そのアルケノン組成の解析を行うことを目指してフィールドワークを行った。

湖沼堆積物試料中に含まれるアルケノンは濃度・組成ともに湖ごとに大きく異なり、「(B-3)代謝産物(炭化水素)の同定と構造の決定」において新規に同定された 3 不飽和アルケノン異性体の有無などの特徴からも湖により異なる系統の生産種が分布することが示唆された。

さらに、いずれの環境でも 4 不飽和アルケノンが顕著に含まれたことから、湖沼由来株の単離により 4 不飽和アルケノン卓越株をはじめ、淡水や高塩分条件下でのアルケノン生産に有用な株の取得が期待される。

今後の成功が期待される淡水株をはじめ、未解明な湖沼由来のアルケノン生産株の確立により、湖沼由来株に特有の生産条件を探索するなど、アルケノン生産技術開発に新たな見解をもたらすことが期待される。

## §4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 13件)

### ■論文詳細情報(国際)

1. Shuntaro Machida, Yoshihiro Shiraiwa and Iwane Suzuki, "Construction of cyanobacterium synthesizing cyclopropane fatty acids". **BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids**, in press.
2. Kazuko Saruwatari, Manami Satoh, Naomi Harada, Iwane Suzuki, and Yoshihiro Shiraiwa, "Change in coccolith size and morphology due to response to temperature and salinity in coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Haptophyta) isolated from the Bering and Chukchi seas". **Biogeosciences** vol. 13, pp. 2743-2755, 2016. (DOI:10.5194/bg-13-2743-2016)
3. Yuri Mizukawa, Yuito Miyashita, Manami Satoh, Yoshihiro Shiraiwa and Masakazu Iwasaka, "Light intensity modulation by coccoliths of *Emiliana huxleyi* as a micro-photo-regulator", **Scientific Reports** vol. 5, Article number: 13577. **2015**. (DOI:10.1038/srep13577)
4. Qing Shi, Hiroya Araie, Ranjith Bakku, Yoichiro Fukao, Randeep Rakwal, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, "Proteomic analysis of lipid body from the alkenone-producing marine haptophyte alga *Tisochrysis lutea*", **Proteomics**, vol. 15, pp. 4145-4158, **2015**. (DOI: 10.1002/pmic.201500010)
5. Yoshinori, Tsuji, Yamazaki Masatoshi, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, "Quantitative analysis of carbon flow into photosynthetic products functioning as carbon storage in the marine coccolithophore, *Emiliana huxleyi*", **Marine Biotechnology**, vol. 17(4), pp. 428-40, **2015**. (DOI: 10.1007/s10126-015-9632-1)
6. Hideto Nakamura, Ken Sawada, Hiroya Araie, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, "*n*-Nonacosadienes from the marine haptophytes *Emiliana huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica*", **Phytochemistry**, vol. 111, pp.107-113, **2015**. (DOI: 10.1016/j.phytochem.2014.12.023)
7. Tomonori Kotajima, Yoshihiro Shiraiwa, Iwane Suzuki, "Functional screening of a novel  $\Delta 15$  fatty acid desaturase from the coccolithophorid *Emiliana huxleyi*", **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular and Cell Biology of Lipids**, vol. 1841, pp.1451-1458, **2014**. (DOI: 10.1016/j.bbalip.2014.07.010)
8. Hideto Nakamura, Ken Sawada, Hiroya Araie, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, "Long chain alkenes, alkenones and alkenoates produced by the haptophyte alga *Chrysothila lamellosa* CCMP1307 isolated from a salt marsh", **Organic Geochemistry**, vol. 66, pp.90-97, **2014**. (DOI: 10.1016/j.orggeochem.2013.11.007)
9. Shin-ya Fukuda, Yurina Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, "Difference in physiological responses of growth, photosynthesis and calcification of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* to acidification by acid and CO<sub>2</sub>", **Photosynthesis Research**, vol. 127, pp. 79-89, **2014**. (DOI: 10.1007/s11120-014-9976-9)
10. Kunio Yamane, Shigeru Matsuyama, Kensuke Igarashi, Motoo Utsumi,



Yoshihiro Shiraiwa, Tomohiko Kuwabara, "Anaerobic coculture of microalgae with *Thermosipho globiformans* and *Methanocaldococcus jannaschii* at 68°C enhances generation of *n*-alkane-rich biofuels after pyrolysis", **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 79, No.3, pp. 924-930, **2013**. (DOI: 10.1128/AEM.01685-12)

11. Betsy A. Read, Jessica Kegel, Mary J. Klute, Alan Kuo, Stephane C. Lefebvre, Florian Maumus, Christoph Mayer, John Miller, Adam Monier, Asaf Salamov, Jeremy Young, Maria Aguilar, Jean-Michel Claverie, Stephan Frickenhaus, Karina Gonzalez, Emily K. Herman, Yao-Cheng Lin, Johnathan Napier, Hiroyuki Ogata, Analissa F. Sarno, Jeremy Shmutz, Declan Schroeder, Colomban de Vargas, Frederic Verret, Peter von Dassow, Klaus Valentin, Yves Van de Peer, Glen Wheeler, *Emiliana huxleyi* Annotation Consortium [Andrew E. Allen, Kay Bidle, Mark Borodovsky, Chris Bowler, Colin Brownlee, J. Mark Cock, Marek Elias, Vadim N. Gladyshev, Marco Groth, Chittibabu Guda, Ahmad Hadaegh, Maria Debora Iglesias-Rodriguez, Jerry Jenkins, Bethan M. Jones, Tracy Lawson, Florian Leese, Erika Lindquist, Alexei Lobanov, Alexandre Lomsadze, Shehre-Banoo Malik, Mary E. Marsh, Luke Mackinder, Thomas Mock, Bernd Mueller-Roeber, António Pagarete, Micaela Parker, Ian Probert, Hadi Quesneville, Christine Raines, Stefan A. Rensing, Diego Mauricio Riaño-Pachón, Sophie Richier, Sebastian Rokitta, Yoshihiro Shiraiwa, Darren M. Soanes, Mark van der Giezen, Thomas M. Wahlund, Bryony Williams, Willie Wilson, Gordon Wolfe & Louie L. Wurch], Joel B. Dacks, Charles F. Delwiche, Sonya T. Dyhrman, Gernot Glöckner, Uwe John, Thomas Richards, Alexandra Z. Worden, Xiaoyu Zhang and Igor V. Grigoriev, "Pan genome of the phytoplankton *Emiliana huxleyi* underpins its global distribution", **Nature**, vol. 499, pp.209-213, **2013**. (DOI: 10.1038/nature12221)
12. Makiko Ono, Ken Sawada, Yoshihiro Shiraiwa and Masako Kubota, "Changes in alkenone and alkenoate distributions during acclimatization to salinity change in *Isochrysis galbana*: Implication for alkenone-based paleosalinity and paleothermometry", **Geochemical Journal**, vol. 46, No. 3, pp. 235-247, **2012**. (DOI: 10.2343/geochemj.2.0203)
13. Yoshinori Tsuji, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, "Enzymological Evidence for the Function of a Plastid-located Pyruvate Carboxylase in the Haptophyte alga *Emiliana huxleyi*: a Novel Pathway for the Production of C<sub>4</sub> Compounds", **Plant Cell Physiology**, vol. 53, pp. 1043-1052, **2012**. (DOI 10.1093/pcp/pcs045)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

「国際」

1. Hiroya Araie and Yoshihiro Shiraiwa, "Selenium in Algae", In: *The Physiology of Microalgae* Edited by MA Borowitzka, J Beardall & JA Raven. Springer, **2016**. [Book Chapter] ISBN 9783319249438 (Hard cover), ISBN 9783319249452 (eBook) (Peer-reviewed)
2. Yoshinori Tsuji and Yoshihiro Shiraiwa, "Distinctive features of photosynthetic carbon metabolism in secondary endosymbiotic algae", **Perspective in Phycology**, ISSN 2198-011X (online) Jun 12, **2015**, DOI: 10.1127/pip/2015/0029 (Schweizerwald) [Review] (Peer-reviewed)
3. Yoshihiro Shiraiwa, Toney Haymet and Peter Wilson, "Algae for biofuels - cold

water, inland in ponds or in the lab? ", U.S.-Japan Research Institute (USJI) Week Events, Conference Center Washington, D.C., USA. Video Report: [http://www.us-jpri.org/en/week\\_201502.html#event1](http://www.us-jpri.org/en/week_201502.html#event1) (on-line Video)

4. Ndimba, B.K., Ndimba, R.J., Johnson, T.S., Waditee-Sirisattha, R., Baba M., Sirisattha, S., Shiraiwa, Y., Agrawal, G.K., Rakwal, R., "Biofuels as a sustainable energy source: An update of the applications of proteomics in bioenergy crops and algae", **Journal of Proteomics**, vol. 93, pp. 234-44. (doi: 10.1016/j.jprot.2013.05.041) [Review] (Peer-reviewed)
5. Masato Baba and Yoshihiro Shiraiwa, "Biosynthesis of Lipids and Hydrocarbons in Algae" In: **Photosynthesis**. Edited by Zvy Dubinsky. InTech Pub., Rijeka, Croatia, **2013**. (ISBN 980-953-307-838-5) [Book Chapter] (Peer-reviewed)
6. Masato Baba and Yoshihiro Shiraiwa: High-CO<sub>2</sub> response mechanisms in microalgae. In: **Advances in Photosynthesis - Fundamental Aspects**. Edited by Mohammad Najafpour. InTech Pub., Rijeka, Croatia, **2012** (ISBN: 978-953-307-928-8). [Book Chapter] (Peer-reviewed)

#### 「国内」

1. 白岩善博: 海洋微細藻類の光合成・物質生産と地球環境、THE CHEMICAL TIMES 2015 No.4(通巻 238 号)pp. 2-9, 2015 年(総説) Open Access: <http://www.kanto.co.jp/times/index.html>
2. 大井信明、白岩善博: イオンラップ型質量分析を導入した海洋微細藻類の脂質メタボローム解析、RADIOISOTOPES 64 (4), pp. 255-264. **2015 年**. (総説)
3. 辻敬典、白岩善博: 海洋植物プランクトンの光合成炭素代謝の多様性、月刊化学工業 7 月号、2013 年(総説)
4. 辻敬典、白岩善博: 炭素同化と初期代謝. 渡邊信(監修)渡邊・白岩他(編集): 藻類ハンドブック、NTS、東京、第 1 編/第 2 章/第 1 節/第 2 項、p. 160-165、2012 年(著書、分担)
5. 沢田健: アルケノン. 渡邊信(監修)渡邊・白岩他(編集): 藻類ハンドブック、NTS、東京、第 1 編/第 2 章/第 1 節/第 10 項、p. 196-201. 2012 年(著書、分担)
6. 岩本浩二、白岩善博: グリセロール、マンニトール代謝. 渡邊信(監修)渡邊・白岩他(編集): 藻類ハンドブック、NTS、東京、第 1 編/第 2 章/第 1 節/第 6 項、p. 178-182、2012 年. (著書、分担)
7. 馬場将人、白岩善博: 藻類の脂質代謝経路とその応用. 微細藻類によるエネルギー生産と事業展望(竹山春子監修)、シーエムシー出版、東京、第 6 章、p.47-56、2012 年. (著書、分担)
8. 辻敬典、白岩善博: 光合成生物の炭素代謝の多様性—海洋微細藻類の研究から—、RADIOISOTOPES、60 巻、pp. 393-395, 2011 年 (DOI:10.3769/radioisotopes.60393) (総説)
9. 白岩善博: 海洋微細藻類を利用する炭素隔離と再生可能な次世代エネルギー生産. 理

大 科学フォーラム 8月号(通算 338号):13-16、2012年(解説)

10. 白岩善博:藻類バイオエネルギー生産と地球環境問題、JISTEC Report No. 80、2011年(解説)

(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 11件、国際会議 13件)

■招待講演詳細情報(国内)

1. 白岩善博(筑波大)、“海洋ハプト藻類の長鎖脂質生合成系の解明と藻類バイオ燃料開発に向けた基盤研究”、第17回マリンバイオテクノロジー学会大会、東京海洋大学品川キャンパス、品川、東京、2015年5月30-31日
2. 辻敬典(関西学院大)、松田祐介(関西学院大)、白岩善博(筑波大)、“藻類におけるC<sub>4</sub>有機酸代謝の多様な機能”、「光合成炭素代謝研究の新展開-CO<sub>2</sub>取込から細胞・代謝工学まで」(オーガナイザー:松田祐介)、第6回日本光合成学会年会および公開シンポジウム、2015年5月22日
3. 白岩善博(筑波大)、“藻類による元素濃縮とバイオレメディエーション”、日本化学会第95春季年会(アドバンス・テクノロジー・プログラム)、日本大学理工学部、船橋、千葉、2015年3月26-29日
4. 大井信明(筑波大)、白岩善博(筑波大)“藻類の脂質メタボローム解析”、平成25年度安定同位体利用技術研究会-代謝研究におけるアイソトープ利用-、東京大学、文京区、東京、2014年3月14日
5. 大井信明(筑波大)、“海洋オイル産生微細藻の脂質メタボロミクス”、文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業シンポジウム「低炭素社会形成のための生物・熱化学プロセスによるバイオマス資源循環活用技術の研究開発」、創価大学、八王子、東京、2013年9月26日
6. 白岩善博(筑波大)、沢田健(北大)、JST/CREST 白岩チーム、“海洋ハプト藻のバイオマーカー脂質分子アルケノン・アルケン合成経路と生理機能”、2013年度地球化学会年会、筑波大学、つくば、茨城、2013年9月11-13日
7. 白岩善博(筑波大)、“ハプト藻と地球環境”、北海道大学、札幌、北海道、2013年7月25日
8. 辻敬典(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“海洋植物プランクトンの光合成炭素代謝の多様性”、日本地球化学会年会セッション「地球化学と生理学・生化学:生理学的知見からみる地球化学」、九州大学、箱崎、九州、2012年9月12日
9. 白岩善博(筑波大)、石油起源海洋生物・円石藻によるバイオオイル生産の基盤技術開発、ユーグレナ研究会、中部大学、春日井、愛知、2011年11月12日
10. 白岩善博(筑波大)、藻類バイオエネルギー生産と地球環境問題、日本アイソトープ協会エンライトニングセミナー、東京理科大学、東京、2011年7月8日
11. 鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、アルケノン合成系の解明とオイル生産への基盤技術の開発に向けて、日本光合成学会シンポジウム、京都大学、京都、2011年6月4日

■招待講演詳細情報(国際)

1. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Algal Biofuel Production Technology and Engineering", International Conference on Sustainability Initiatives (ICSI 2015) in Conjunction with 8<sup>th</sup> ASEAN Environmental Engineering Conference (AEEC), Universiti Teknologi Malaysia, Kuala Lumpur, August 24-25, 2015 (Keynote speech)
2. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Metabolomic and Proteomic Study on Lipid

- production mechanism: An Approach toward Biofuel Production by Marine Microalgae", International Conference on Coastal Biotechnology (ICCB2015), Qingdao, PR China, August 18-21, 2015 (Plenary lecture)
3. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Microalgal metabolomics and proteomics of lipid biosynthesis for algal biofuel production", Systems Biology 2015 (12th WORKSHOP on Systems Biology 2015 From Big Data to Bioeconomy, Melbourn, Australia, May 18-June 5, 2015 (Plenary lecture)
  4. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Production of alkenones and alkenes as biofuel candidates by marine microalgae: algal lipidomics approach", Seminar in Institute for Marine & Antarctic Studies, University of Tasmania, Australia, March 7, 2015
  5. Yoshinori Tsuji (関西学院大), "Unique features of photosynthetic carbon metabolism in the coccolithophore, *Emiliana huxleyi*", The 2014 OCARINA Annual International Meeting, Osaka City University, Osaka, March 4-5, 2015
  6. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Algae for biofuels - cold water, inland in ponds or in the lab?", U.S.-Japan Research Institute, Washington, D.C., February 23, 2015 [http://www.us-jpri.org/en/week\\_201502.html](http://www.us-jpri.org/en/week_201502.html)
  7. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Mechanisms of the Production of Alkenones and Coccoliths by the Coccolithophore *Emiliana huxleyi* and its Physiological Response to Environmental Change. Seminar in Observatoire Océanologique Laboratoire d'Océanographie CNRS-UPMC, Villefranche-sur-mer. France, October 14, 2014
  8. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "The novel biosynthetic pathway of algal biofuel candidates in marine microalgae: Approach from algal lipidomics", 7th Asian Pacific Phycological Forum (APPF2014), Wuhan, China, September 20-24, 2014 (Plenary lecture)
  9. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Production of Biofuels and Biominerals by Microalgae", 2<sup>nd</sup> International Symposium on Energy Challenges and Mechanics (ECM2), Aberdeen, Scotland, UK, August 19-21, 2014 (Invited speaker)
  10. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Biofuel production by marine microalgae.", SCUT Workshop for Microalgal Biotechnology 2014, South China University of Technology, China, May 16-18, 2014 (Invited speaker)
  11. Yoshinori Tsuji (筑波大), "Unique Features of Photosynthetic Carbon Metabolism in the Coccolithophorid, *Emiliana huxleyi*", Kickoff Symposium for Tsukuba-Norwich Collaborative Research Networks, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Mar 14th, 2014
  12. Nobuaki Ohi (筑波大), Hiroya Araie (筑波大), Hideto Nakamura (北大), Ken Sawada (北大), Tomonori Kotajima (筑波大), Yoshinori Tsuji (筑波大), Manami Satoh (筑波大), Iwane Suzuki (筑波大) and Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Metabolic pathway of alkenones and alkenes by marine haptophytes and its application to biofuel production", Marine Algal Oleomics: New Development of Biofuel Production Research and Technology organized by Yoshihiro Shiraiwa & Navid Moheimani, The 10th International Marine Biotechnology Conference (IMBC 2013), Brisbane, Australia, 2013 (Symposium Organizer & Invited speaker) (Funding support by CREST, JST)
  13. Yoshihiro Shiraiwa (筑波大), "Alkenone biosynthesis by marine Haptophytes as biorefinery for renewable energy production", International Symposium on Biotechnology for Green Growth, The Society for Biotechnology, Japan, The 90th Anniversary Meeting, Kobe International Conference Center, Kobe, Hyogo, Japan, October 24-26, 2012 (Invited speaker)

② 口頭発表 (国内会議 30 件、国際会議 22 件)

■口頭講演詳細情報(国内)

1. 沢田健(北大), “藻類バイオ燃料と藻類脂質に直接関連した化石燃料の研究“, 日本地球化学会第 62 回年会、横浜国立大学、横浜、2015 年 9 月 16-18 日
2. 沢田健(北大), “藻類バイオ燃料に関する有機地球化学研究“, 日本有機地球化学会第 33 回年会、北海道大学低温研究所、札幌、2015 年 8 月 6-7 日
3. 中村英人(北大), 沢田健(北大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “ハプト藻アルケノン生産種の多様性とバイオマーカー組成の関係: アルケノン古水温計の陸水環境における応用に向けて“, 日本有機地球化学会第 33 回年会、北海道大学低温研究所、札幌、2015 年 8 月 6-7 日
4. 新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“低温に対する円石藻 *Emiliana huxleyi* 脂質代謝のトランスクリプトーム解析”、第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会、東京海洋大学品川キャンパス、東京、2015 年 5 月 30-31 日
5. 埴優(筑波大)、Angela Pelusi(マルケ工科大、伊)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻が産出するアルケノンの生産性の評価および FT-IR による検出法の開発” 第 17 回マリンバイオテクノロジー学会大会、東京海洋大学品川キャンパス、東京、2015 年 5 月 30-31 日
6. 大井信明(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“海洋植物プランクトンのバイオ燃料創出に向けたメタボローム解析”、海洋植物プランクトンのバイオ燃料創出に向けたメタボローム解析、2015 年度日本海洋学会春季大会、東京海洋大学、東京、2015 年 3 月 21 日-3 月 25 日
7. Yoshinori Tsuji(筑波大)、Masatoshi Yamazaki(筑波大)、Iwane Suzuki(筑波大)、Yoshihiro Shiraiwa(筑波大)、“Long-chain unsaturated ketones (alkenones), but not  $\beta$ -glucan, are major storage macromolecules in the marine haptophyte alga, *Emiliana huxleyi*” 第 56 回日本植物生理学会年会、東京農工大学、東京、2015 年 3 月 16 日-18 日
8. 阿部涼平(北大)、沢田健(北大)、中村英人(北大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻脂質の熱分解実験—バイオ燃料生成に関する研究”、日本有機地球化学会第 32 回年会、ニューウェルシティ湯河原、熱海、神奈川、2014 年 11 月 5-8 日
9. 阿部涼平(北大)、沢田健(北大)、中村英人(北大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻の熱分解実験による藻類脂質の分解過程の検討: バイオ燃料生産への応用”、日本地球化学会第 61 回年会、富山大学、富山、2014 年 9 月 16-18 日
10. 中村英人(北大)、沢田健(北大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻イソクリシス科のアルケノン組成の化学分類学的特徴: *Tisochrysis* および *Isochrysis*”、日本地球化学会第 61 回年会、富山大学、富山、2014 年 9 月 16-18 日
11. 阿部涼平(北大)、沢田健(北大)、中村英人(北大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻の熱熟成実験による藻類脂質の分解・続成過程の検討”、日本地質学会第 121 回年会、鹿児島大学、鹿児島、2014 年 9 月 13-15 日
12. 古田島知則(筑波大)、北村英理(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ $^{13}\text{C}$  安定同位体標識によるアルケノン不飽和化機構の解明”、第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会、三重大学、三重、2014 年 5 月 31 日-6 月 1 日
13. 史青(筑波大)、新家弘也(筑波大)、Ranjith Kumar Bakku(筑波大)、Randeep Rakwal(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“Proteomics of lipid bodies from *Isochrysis galbana*”、第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会、三

- 重大学、三重、2014年5月31日-6月1日
14. 佐藤真奈美(筑波大), 伊藤史紘(筑波大), 原田尚美(JAMSTEC), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “円石藻 *Emiliana huxleyi* の暗条件への生理学的応答の解析”, 第16回マリンバイオテクノロジー学会大会、三重大学、三重、2014年5月31日-6月1日
  15. 古田島知則(筑波大), 白岩善博(筑波大), 鈴木石根(筑波大), “A Novel  $\Delta 15$  Fatty Acid Desaturase Involved in Synthesis of Octadecapentaenoic Acid, 18:5, in the Haptophyta *Emiliana huxleyi*”, 第55回日本植物生理学会年会、富山大学、富山、2014年3月18-20日
  16. 大井信明(筑波大), 白岩善博(筑波大), “海洋微細藻類における脂質メタボローム解析”, 平成25年度安定同位体利用技術研究会、東京大学、東京、2014年3月14日
  17. 山崎将俊(筑波大), 辻敬典(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “円石藻 *Emiliana huxleyi* の光合成炭素貯蔵に関する炭素フラックス解析”, 日本植物学会第77回大会、北海道大学、札幌、2013年9月13-15日
  18. 大井信明(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “超長鎖ケトン産生海洋ハプト藻の脂質メタボローム解析: 新規超長鎖 Fatty acyl-CoA の同定”, 日本植物学会第77回大会、北海道大学、札幌、2013年9月13-15日
  19. 中村英人(北大), 沢田健(北大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “ハプト藻 *Chrysolida lamellosa* のアルケノン、アルケン組成に対する塩分の効果”, 日本地球化学会第60回年会、筑波大学、つくば、2013年9月11-13日
  20. 加納千紗都(北大), 沢田健(北大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “ハプト藻培養試料から検出された特異的なステロールの考察”, 日本地球化学会第60回年会、筑波大学、つくば、2013年9月11-13日
  21. 鈴木石根(筑波大), 大井信明(筑波大), 辻敬典(筑波大), 佐藤真奈美(筑波大), 福田真也(筑波大), 新家弘也(筑波大), 白岩善博(筑波大), “ハプト藻の貯蔵性オイル成分アルケノンの合成経路と生理機能”, 第15回マリンバイオテクノロジー学会、沖縄自治会館、那覇、2013年6月1-2日
  22. 新家弘也(筑波大), 馬場将人(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “トランスクリプトーム解析による円石藻特有の脂質代謝解析”, 第15回マリンバイオテクノロジー学会、沖縄自治会館、那覇、2013年6月1-2日
  23. 井原希(筑波大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “円石藻 *Emiliana huxleyi* における超長鎖脂質の生理機能の解析”, 第15回マリンバイオテクノロジー学会、沖縄自治会館、那覇、2013年6月1-2日
  24. 中村英人(北大), 沢田健(北大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “ハプト藻 *Chrysolida lamellosa* の長鎖アルケノン・アルケン組成と生育温度の関係”, 日本地球惑星科学連合2013年大会、幕張メッセ、幕張、2013年5月19-23日
  25. 大井信明(筑波大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 白岩善博(筑波大), “海洋植物プランクトンの脂質メタボローム解析”, 2013年度 日本海洋学会春季大会、東京海洋大学品川キャンパス、東京、2013年3月22日
  26. 白岩善博(筑波大), 新家弘也(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 中村英人(北大), 加納千紗都(北大), 沢田健(北大), “ハプト藻類におけるアルケノン産生株のスクリーニング”, 第28回ユーグレナ研究会、石川県立大学、金沢、2012年11月24日
  27. 中村英人(北大), 沢田健(北大), 加納千紗都(北大), 白岩善博(筑波大), 鈴木石根(筑波大), 新家弘也(筑波大), “ハプト藻の長鎖アルケン組成の多様性”, 日本地球化学会第59回年会、九州大学、福岡、2012年9月12日
  28. 加納千紗都(北大), 沢田健(北大), 中村英人(北大), 白岩善博(筑波大), 鈴木石根(筑波大)

波大)、新家弘也(筑波大)、“ハプト藻培養試料におけるステロイド分析:バイオマーカー指標の検討”、日本地球化学会第59回年会、九州大学、福岡、九州、2012年9月12日

29. 辻敬典(筑波大)、白岩善博(筑波大)、円石藻と珪藻の生理特性の比較、2012年度日本プランクトン学会春季シンポジウム、東京大学、東京、2012年3月30日
30. 辻敬典(筑波大)、白岩善博(筑波大)、代謝とゲノム情報から見る珪藻と円石藻の生理特性の違い、日本植物学会第75回大会(シンポジウム)、東京大学、東京、2011年9月18日

■口頭講演詳細情報(国際)

1. Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), and The Shiraiwa's Team of CREST/JST Project [H. Araie(筑波大), Q. SHI(筑波大), Y. Tsuji(筑波大), T. Kotajima(筑波大), Y. Hanawa(筑波大), I. Suzuki(筑波大), Y. Shiraiwa(筑波大), H. Nakamura(北大) & K. Sawada(北大)], "Drop-in-fuel production from alkenone-producing marine haptophyte algae", The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem), Honolulu (USA), December 14-20, 2015.
2. Ken Sawada(北大), Ryohei Abe(北大), Hideto Nakamura(北大), Hiroya Araie(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), "Pyrolysis experiment of lipids in haptophyte algae: Research for biofuel generation", The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem), Honolulu (USA), December 14-20, 2015.
3. Nozomi Ihara(筑波大), Araie Hiroya(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), "Analysis of biosynthetic pathway of C<sub>37</sub>-alkenes with *trans*-type carbon double Bond in *Emiliana huxleyi* RCC1217 strain", Malaysia-Japan Joint Symposium on Biomass, Bioenergy and Water Environment for Development of Sustainable Society, Kuala Lumpur, Malaysia, October 30-31, 2014
4. Eri Kitamura(筑波大), Tomonori Kotajima(筑波大), Ohi Nobuaki(筑波大), Hiroya Araie(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), "Mechanism of the Biosynthesis of Long Chain Ketones and Alkenes for Algal Biofuel Production by Marine Haptophytes", The 10<sup>th</sup> Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Taipei, Taiwan, May 4-8, 2014
5. Hiroya Araie(筑波大), Hideto Nakamura(北大), Takashi Shiratori(筑波大), Ken-ichiro Ishida(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), "Variations in Compositions of Long Chain Alkenones Reflect Phylogenetic Relationship", The 10<sup>th</sup> Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Taipei, Taiwan, May 4-8, 2014
6. Yuta Watanabe(筑波大), Hiroya Araie(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), "Metabolic Analysis of the Biosynthesis of Very Long Chain Fatty Acids and Ketones by the Marine Haptophyte Alga *Emiliana huxleyi*: A Survey for Algal Biofuel Production", The 10<sup>th</sup> Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, Taipei, Taiwan, May 4-8, 2014
7. Ken Sawada(北大), Ryohei Abe(北大), Hideto Nakamura(北大), "Pyrolysis experiments of long chain alkenones and alkenes in *Emiliana huxleyi*", The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Feb 28, 2014
8. Hideto Nakamura(北大), Ken Sawada(北大), Hiroya Araie(筑波大), Yoshirio Shiraiwa(筑波大), "Chemotaxonomic significance of alkenone composition in family Isochrysidaceae.", The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba,

- Ibaraki, Feb 28, 2014
9. Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “CREST/JST project on alkenone biosynthetic pathway analysis in marine haptophytes.”, The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Feb 28<sup>th</sup>, 2014
  10. Yoshinori Tsuji(筑波大), Masatoshi Yamazaki(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Analysis of photosynthetic carbon flux into alkenones and polysaccharides in the coccolithophorid *Emiliana huxleyi*.”, The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Feb 28, 2014
  11. Nobuaki Ohi(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Ken Sawada(北大), Hideto Nakamura(北大), Ranjith Kumar Bakku(筑波大), Shin-ya Fukuda(筑波大), Yutaka Hanawa(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “A big step towards elucidation of alkenone synthetic pathway in *Emiliana huxleyi*.”, The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Feb 28, 2014
  12. Hiroya Araie(筑波大), Masato Baba(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Transcriptomic analysis of cold-inducible genes associated with lipid biosynthesis in *Emiliana huxleyi*.”, The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Feb 28<sup>th</sup>, 2014
  13. Tomonori Kotajima(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Identification of a  $\Delta 15$  fatty acid desaturase in the coccolithophorid, *Emiliana huxleyi*.”, The 2<sup>nd</sup> International Joint Meeting of Alkenone Biosynthesis in Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Feb 28, 2014
  14. Nobuaki Ohi(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Shotgun lipidomic profiling in marine haptophyte alga *Emiliana huxleyi*: identification of intermediates for lipid and very-long-chain alkene biosynthesis”, The 10<sup>th</sup> International Marine Biotechnology Conference(IMBC 2013), Brisbane, Australia, Nov 11-16, 2013
  15. Hiroya Araie(筑波大), Masato Baba(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Transcriptome analysis of genes associated with cold-inducible lipid biosynthesis in *Emiliana huxleyi*”, The 10<sup>th</sup> International Marine Biotechnology Conference(IMBC 2013), Brisbane, Australia, Nov 11-16, 2013
  16. Yoshihiro Tsuji(筑波大), Masatoshi Yamazaki(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Photosynthetic Carbon Partitioning into Lipids and Polysaccharides in the coccolithophore *E. huxleyi*”, The 10<sup>th</sup> International Marine Biotechnology Conference(IMBC 2013), Brisbane, Australia, Nov 11-16, 2013
  17. Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism for oil production and calcium carbonate deposition by coccolithophores”, The VIII<sup>th</sup> International symposium on Inorganic Carbon Utilization by Aquatic Photosynthetic Organisms (CCM8), Loyola University, New Orleans, USA, May 27-Jun 1, 2013
  18. Nobuaki Ohi(筑波大), Hiroya Araie(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Lipidome profiling of ultra-long chain oil producing microalgae”, 7<sup>th</sup> Metabolome Symposium, Tsuruoka, Keio University Institute of Advanced Biosciences, Yamagata, October 11, 2012
  19. Ken Sawada(北大), Mayumi Takeda(北大), Makiko Ono(北大), Hu Ke(北大),



- Yoshinori Takano(筑波大), “Biological and geochemical studies on long chain alkenones from continental lake sediments in China and Antarctica” The first international jointed meeting of the Alkenone Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan, July 26, 2012
20. Hideto Nakamura(北大), Hiroya Araie(筑波大), Chisato Kanou(北大), Ken Sawada(北大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Variations in compositions of long chain alkenones and alkenes in culture samples of haptophyte algae” The first international jointed meeting of the Alkenone Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan, July 26, 2012
21. Hiroya Araie(筑波大), Hideto Nakamura(北大), Chisato Kanou(北大), Ken Sawada(北大), Yoshihiro Shiraiwa(筑波大), “Screening of Alkenone- and Alkene-producing Coccolithophores”, The first international jointed meeting of the Alkenone Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan, July 26, 2012
22. Tomonori Kotajima(筑波大), Eri Kitamura(筑波大), Nozomi Ihara(筑波大), Hiroya Araie(筑波大), Iwane Suzuki(筑波大), Yoshinori Shiraiwa(筑波大), The mechanism of C<sub>37:3</sub>-alkenone Biosynthesis in the coccolithophorid *Emiliana huxleyi*. The first international jointed meeting of the Alkenone Bioscience and Geoscience, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan, July 26th, 2012

③ ポスター発表 (国内会議 15 件、国際会議 10 件)

■ポスター発表詳細情報(国内)

1. 大井信明(筑波大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“海洋性ハプト藻 *Emiliana huxleyi* の脂質メタボロミクス解析: オイル産生バイオマーカーの探索”、ユーグレナ研究会第 29 回研究集会、筑波大学、つくば、茨城、2013 年 11 月 9 日
2. 井原希(筑波大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“複数株の円石藻 *Emiliana huxleyi* を用いた超長鎖脂質の代謝と生理機能の比較解析”、ユーグレナ研究会第 29 回研究集会、筑波大学、つくば、茨城、2013 年 11 月 9 日
3. 北村英理(筑波大)、古田島知則(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“円石藻 *Emiliana huxleyi* による C<sub>37:3</sub> アルケン合成機構の解明”、ユーグレナ研究会第 29 回研究集会、筑波大学、つくば、茨城、2013 年 11 月 9 日
4. 山崎将俊(筑波大)、辻 敬典(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“円石藻 *Emiliana huxleyi* の貯蔵炭素化合物への光合成炭素フラックス解析”、ユーグレナ研究会第 29 回研究集会、筑波大学、つくば、茨城、2013 年 11 月 9 日
5. 中村英人(北大)、沢田健(北大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻 *Chrysothila lamellosa* の長鎖アルケン・アルケン組成と生育温度の関係”、2013 年度日本地球惑星科学連合大会、幕張メッセ、千葉、2013 年 5 月 19 日
6. 新家弘也(筑波大)、馬場将人(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻類の脂質代謝に関わるトランスクリプトーム解析”、第 54 回 日本植物生理学会年回、岡山大学、津島、岡山、2013 年 3 月 21-23 日
7. 辻敬典(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“酵素処理による円石藻 *Pleurochrysis carterae* のプロトプラスト作成”、第 54 回 日本植物生理学会年回、岡山大学、津島、岡山、2013 年 3 月 21-23 日。
8. 佐藤真奈美(筑波大)、志村遥平(筑波大)、新家弘也(筑波大)、古田島知則(筑波大)、伊藤史紘(筑波大)、井原希(筑波大)、川口美咲(筑波大)、西本謙太郎(筑波大)、渡

- 邊祐太(筑波大)、原田尚美(JAMSTEC)、岩本浩二(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“培養温度と円石藻 *Emiliana huxleyi* のバイオマスの相関性”、ブルーアース 2013、海洋大学、品川、東京、2013年3月14-15日
9. 古田島知則(筑波大)、新家弘也(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻がつくる多価不飽和脂肪酸 18:5 の合成経路”、第 28 回ユウグレナ研究会、石川県立大学、金沢、石川、2012年11月24日
  10. 新家弘也(筑波大)、馬場将人(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“円石藻 *Emiliana huxleyi* の低温誘導トランスクリプトーム解析”、第 28 回ユウグレナ研究会、石川県立大学、金沢、石川、2012年11月24日
  11. 中村英人(北大)、沢田健(北大)、白岩善博(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、新家弘也(筑波大)、加納千紗都(北大)、“ハプト藻のアルケン・アルケノン組成における種内および種間多様性”、2012 年度日本地球惑星科学連合大会、幕張メッセ、千葉、2012年5月20日
  12. 新家弘也(筑波大)、白岩善博(筑波大)、円石藻 *Emiliana huxleyi* の増殖を制御する必須微量元素セレン、日本海洋学会春季大会、筑波大学(つくば)、2012年3月27日
  13. 辻敬典(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、“ハプト藻 *Emiliana huxleyi* 由来ピルビン酸カルボキシラーゼのリコンビナントタンパク質作製とその特性解析”、第 53 回日本植物生理学会年会、京都(京都産業大学)、2012年3月18日
  14. 中村英人(北大)、沢田健(北大)、加納千紗都(北大)、白岩善博(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、“ハプト藻における長鎖アルケン生合成の研究:地球化学的視点から”、第 58 回日本地球化学学会年会、札幌(北海道大学)、2011年9月15日
  15. 趙 盛美(筑波大)、佐藤真奈美(筑波大)、鈴木石根(筑波大)、白岩善博(筑波大)、円石藻 *Emiliana huxleyi* における低温条件順化・適応特性、第 14 回マリンバイオテクノロジー学会大会、静岡(静岡県コンベンションアーツセンター「グランシップ」)、2011年5月28日

■ポスター発表詳細情報(国際)

1. Hiroya Araie, Masato Baba, Tomonori Kotajima, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, “Alkenone and transcriptome analysis of the response to cold temperature in the marine haptophyte alga, *Emiliana huxleyi*”, International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (*Pacificchem*), Honolulu, Hawaii, December 15-20, 2015
2. Hideto Nakamura, Hiroya Araie, Ken Sawada, Iwane Suzuki, Yoshihiro Shiraiwa, “Diversity of hydrocarbons produced by alkenone-producing haptophyte algae”, International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (*Pacificchem*), Honolulu, Hawaii, December 15-20, 2015
3. Ken Sawada, Mayumi Takeda, Yoshinori Takano, “Possible climatic signal recorded by alkenone distributions in sediments from freshwater and saline lakes on the Skarvsnes and Skallen areas, Antarctica”, American Geophysical Union Fall Meeting 2014, San Francisco (USA), December 15-20, 2014
4. Ryohei Abe, Ken Sawada, Hideto Nakamura, Hiroya Araie, Yoshihiro Shiraiwa, “Diagenetic alteration of long chain alkenones during early stage of thermal maturation: examination for haptophyte biomarker in ancient sediment”, Asia Oceania Geosciences Society (AOGS) 11<sup>th</sup> Annual Meeting, Royton Sapporo Hotel, Sapporo, July 28-August 1, 2014
5. Hideto Nakamura, Ken Sawad, Chisato Kanou, Hirya Araie, Iwnae Suzuki, Yoshihiro Shiraiwa, “Diversity of *n*-alkenes in the haptophyte algae - a possible hydrocarbon resource”, The 26<sup>th</sup> International Meeting of Organic

- Geochemistry, Tenerife, Spain, September 16-17, 2013
6. Koji Iwamoto, Norio Sugiura, Yoshihiro Shiraiwa, “Recycling of seawater medium for biofuel producing coccolithophorid *Emiliana huxleyi*”, International Conference on Water and Wastewater Management - Water for Life, Kuala Lumpur, Malaysia
  7. Yoshinori Tsuji, Iwane Suzuki, Yoshihiro Shiraiwa, “Characterization of Plastid-localized Pyruvate Carboxylase in the Haptophyte Alga, *Emiliana huxleyi*”, Gordon Research Conference, CO<sub>2</sub> Assimilation in Plants: Genome to Biome. Les Diablerets, Switzerland. May 29 - June 3, 2011
  8. Yoshihiro Shiraiwa, “Response of Marine Unicellular Calcifying Alga *Emiliana huxleyi* (Coccolithophorales, Prymnesiophyceae) to Ocean Acidification in Growth”, Photosynthesis and Calcification. Gordon Research Conference, CO<sub>2</sub> Assimilation in Plants: Genome to Biome, Les Diablerets, Switzerland. May 29 - June 3, 2011
  9. Madoka Kobayashi, Ken Sawada, Osamu Seki, “Distributions of long-chain diols in surface sediments from the North Pacific: possible revised diatom biomarker paleothermometry”, The 25<sup>th</sup> International Meeting of Organic Geochemistry, Interlaken, Switzerland, September 19-20, 2011
  10. Ken Sawada, Makiko Ono, Hiroyuki Kitagawa, Hu Ke, “Holocene paleoclimatic variations recorded by biomarkers in sediment cores from the Dabusu Lake, northeastern China”, The 25<sup>th</sup> International Meeting of Organic Geochemistry, Interlaken, Switzerland, September 22-23, 2011

(5)受賞・報道等

① 受賞

1. 中村英人: 日本有機地球化学会奨励賞・田口賞(日本有機地球化学会)、授賞対象業績は、「陸上植物および微細藻類のバイオマーカーによる化学分類、古環境復元の研究」. 札幌, 2015年8月6日(第33階有機地球化学シンポジウム)
2. 白岩善博: マリンバイオテクノロジー学会賞(マリンバイオテクノロジー学会)、授賞対象業績は、「海洋ハプト藻類の長鎖脂質生合成系の解明と藻類バイオ燃料開発に向けた基盤研究」. 東京, 2015年5月30日(第17回マリンバイオテクノロジー学会大会)
3. 古田島知則: 第28回ユーグレナ研究会若手優秀発表賞、石川県立大学、金沢、石川、2012年11月24日.
4. Tomonori Kotajima : 5th Japan-China-Korea Graduate Student Forum, Presentation Award, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan, September 21<sup>st</sup>, 2012.

②マスコミ(新聞・TV等)報道(プレス発表をした場合にはその概要もお書き下さい。)

1. プレス発表「藻類のもつ微結晶が光を有効利用する原理解明にせまる ～磁場で微結晶の向きを揃える新技術で光反射特性を明らかに～」(広島大学、筑波大学、JST)  
 広島大学の岩坂正和教授と筑波大学の白岩善博教授らの研究グループは、藻類の細胞外被・外殻結晶の向きを磁場で遠隔操作する手法を開発し、円石藻のつくる炭酸カルシウムの円盤状の微結晶(円石, ココリス)が光を効率的に反射する方向を特定することに成功しました。この研究成果は、オンライン誌の *Scientific Reports* 誌(2015年9月1日号)に掲載された(Open Access)

2. 筑波大学新聞「油を生む藻類：低温でも増殖可能—寒冷地で油の生産も」、2013年10月7日。(取材記事)
3.
  - ・朝日新聞「円石藻のゲノム解読—筑波大など 発生の原因究明へ」、2013年7月25日(全国、科学欄)(取材記事)
  - ・プレス発表「海洋生態系で重要な役割を演じてきた円石藻類のゲノムを解読」(筑波大学) 筑波大学生命環境系 白岩善博教授が参加する円石藻類ゲノム配列コンソーシアム(代表：米国カリフォルニア州立大学サンマルコス校 リード教授)は、円石藻の1種「*Emiliania huxleyi*: エミリアニア・ハクスレイ」の核ゲノムの全塩基配列の解読・解析に成功しました。本成果は、英科学誌 Nature に掲載されました(Online: 2015.6. 12; Paper: 2015.7. 11)。
4. ラジオ NHK 第一放送、私も一言！夕方ニュース、ここに注目。”微生物・円石藻がエネルギー危機を救う”、出演：白岩善博、谷田部雅嗣解説委員、東京、2013年1月30日。

### ③その他

#### 広報誌における成果発表

1. JST News, 円石藻のポテンシャルを引き出せ, Vol. 8, No. 11, p. 8-9, 2012年2月
2. JISTIC Report, 微細藻類によるCO<sub>2</sub>固定とオイル生産, Vol. 80, p. 7-9, 2011年10月1日

#### 技術移転など

1. 自動車会社へのハプト藻類によるバイオ燃料産業化のための技術指導、平成25年度
2. 自動車会社へのハプト藻類によるバイオ燃料産業化のための技術指導、平成24年度

## §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
2015年10月12日	チーム内ミーティング(非公開)	筑波大学生物農林学系棟 B502 会議室	6人	筑波大学グループと北海道大学グループの研究報告と最終報告・プレゼンへの対応の検討
2015年9月18日	第8回日中韓大学院生フォーラム2015	筑波大学生命環境科学研究科	160人	日韓大学院生フォーラム2015で基調講演し、CREST研究成果の広報をした。
2015年9月17日	日本地球化学会年会セッション「生物と有機物の地球化学」	横浜国立大学教育人間科学部	40人	日本地球化学会年会セッションのコンビーナーを沢田健が務めた。CRESTで得られた藻類脂質研究に関する生理学と地球化学の分野横断的研究成果を発表する年会セッションを開催した(発表件数18件)。

2015年7月29日	神奈川県立西湘高校(SSH)実習	筑波大学生命環境科学研究科	30人	アウトリサーチ活動。神奈川県立西湘高校(SSH)に対するCREST研究紹介と公開実験を実施した。
2015年5月1日	山形県立寒河江高等学校創立94周年記念講演会	山形県寒河江市寒河江高校	650人	アウトリサーチ活動。「ミクロの世界から地球を見る - 科学者という仕事に就いて - 」と題する講演の中で、本CREST課題で得られた円石藻類に関する成果や藻類バイオマスエネルギー研究について紹介した。
2015年3月9日	タスマニア大学海洋・南極研究所においてセミナー開催	タスマニア大学海洋・南極研究所		タスマニア大学海洋・南極研究所においてセミナーを行い、CREST研究成果の広報をした。
2015年2月23日	日米研究インスティテュート(USJI)ウィークセミナーのセッション“Algae for biofuels - cold water, inland in ponds or in the lab?”	Conference Room A (Washington, D.C.)	20人	USA、オーストラリアの研究者と共に藻類のバイオエネルギー、環境へのインパクトに関するセミナーを企画し、研究成果の広報を行った。本CREST代表者・白岩善博が企画、司会をした。
2014年9月16-17日	日本地球化学会年会セッション「生物と有機物の地球化学」	富山大学理学部	40人	日本地球化学会年会セッションの主コンビンナーを沢田健が務めた。藻類脂質研究に関する生理学と地球化学の分野横断的研究成果を発表する年会セッションを開催した(発表件数18件)。
2014年8月1日	神奈川県立西湘高校(SSH)実習	筑波大学生命環境科学研究科	47人	アウトリサーチ活動。神奈川県立西湘高校(SSH)に対するCREST研究紹介と公開実験を実施した。
2014年7月4日	チーム内ミーティング(非公開)	筑波大学	9人	研究進捗報告のためのミーティング。本CRESTの北大グループの沢田健と中村正人を招いて行った。
2014年4月18日	チーム内ミーティング(非公開)	筑波大学	10人	研究進捗報告のためのミーティング。本CREST・研究参加者の北陸先端科学技術大学院大学に所属する牧島亮男、三宅幹夫、大坂一生、宮里朗夫を招いて行った。
2014年2月28日	The 2 <sup>nd</sup> International Joint Meeting on Alkenone Biosynthesis in	筑波大学・総合研究棟A	30人	長鎖アルケノンに関連した生物科学と地球科学の共同国際シンポジウムを開催し

	Bioscience and Geoscience			た。 グラスゴー大学の Jaime Toney 博士(講師)と研究総括(白岩善博)が企画した、Jaime Toney 博士ら 3 名を招聘しての共同国際シンポジウムである。
2013 年 11 月 11 日～16 日	10 <sup>th</sup> International Marine Biotechnology Conference (IMBC)、Special Symposium: Algal Biotechnology and Bioenergy: Research, Application and Sustainability.	Brisbane Convention and Exhibition Centre、Australia		藻類脂質研究に関する生理学・生化学の研究成果を発表するシンポジウムを開催する。(発表件数8件＋一般講演)
2013 年 11 月 9 日	ユーグレナ研究会 第 29 回研究集会	筑波大学生命環境科学研究科・生農 G 棟	100	本 CREST の代表者、白岩善博が本大会の実行委員長を務めた。
2013 年 9 月 24 日	埼玉県立熊谷西高校実験実習	筑波大学生命環境科学研究科	4 人	埼玉県立熊谷西高校(SSH)に対する CREST 研究紹介と実験指導。
2013 年 9 月 12 日	日本地球化学会年会セッション「地球化学と生理学:生理学的知見からみる地球化学」	筑波大学第一エリア	30 人	日本地球化学会年会セッションの主コンビーナーを沢田健が務めた。藻類脂質研究に関する生理学と地球化学の分野横断的研究成果を発表する年会セッションを開催した(発表件数 10 件)。
2013 年 9 月 5 日	藻類バイオマス国際シンポジウム ～藻類の恵みを人類へ～	野村コンファレンスプラザ		藻類バイオマスに関する日本・米国政府機関と企業が集まるシンポジウムにて発表した。
2013 年 8 月 6 日	富山経済同友会環境問題委員会講演会	オークスカナルパークホテル富山		鈴木石根が務めた。講演題目「微細藻類を用いた有用バイオマスの生産に向けて」
2013 年 7 月 31 日	神奈川県立西湘高校(SSH)実験実習	筑波大学生命環境科学研究科	48 人	神奈川県立西湘高校(SSH)に対する CREST 研究紹介と公開実験を実施した。
2013 年 7 月 25 日	公開セミナー「ハプト藻と地球環境」	北海道大学理学部	30 人	北海道大学大学院理学研究院・自然史科学部門地球惑星システム科学分野において、本 CREST 代表者・白岩善博が CREST 研究紹介を含む公開講演会を実施した。

2013年5月18日	国際植物の日 「筑波大学みどり散歩」	筑波大学総合研究棟 A		5月18日の国際植物の日 に開かれたイベントに出展。 研究紹介と展示を行った。
2013年2月4日	アウトリーチ活動 大分県立日田高等学校 SSH 講習会	筑波大学総合研究棟 A	45人	鈴木石根が務めた。大分県立日田高等学校((SSH))に対する研究紹介。
2012年11月16日	グリーンイノベーション EXPO	東京ビッグサイト		鈴木石根が務めた。「藻類を用いた炭化水素生産」という 題目で展示を行った。
2012年9月12日	日本地球化学会年会セッション「地球化学と生理学・生化学:生理学的知見からみる地球化学」	九州大学箱崎キャンパス	50人	日本地球化学会年会セッションの主コンピーナーを沢田健が務めた。藻類脂質研究に関する生理学と地球化学の分野横断的研究成果を発表する年会セッションを開催した((発表件数15件))。
2012年8月10日	アウトリーチ活動	筑波大学生命環境科学研究科	40人	神奈川県立西湘高校((SSH))に対するCREST研究紹介と公開実験を実施
2012年7月30日	オープンハウス 筑波大学・大学説明会	筑波大学生命環境科学研究科	50人	研究紹介と藻類の展示を行った。希望者には研究室や培養室を案内した。
2012年7月26日	The first international jointed meeting of the Alkenone Bioscience and Geoscience	筑波大学生命環境科学研究科	30人	長鎖アルケノンに関連した生物科学と地球科学の共同国際シンポジウムを国内のみでなく国際的にも初めて開催した。グラスゴー大学のResearch associate の Jaime Toney 博士ら3名を招聘しての共同国際シンポジウムである。
2012年7月5日	アウトリーチ活動 茨城県立土浦第三高等学校生物部	茨城県立土浦第三高等学校	40人	鈴木石根が務めた。茨城県立土浦第三高等学校に対する研究紹介。
2012年2月13日	アウトリーチ活動 大分県立日田高等学校 SSH 講習会	つくば研修センター	50人	鈴木石根が務めた。大分県立日田高等学校((SSH))に対する研究紹介。
2011年9月15日	日本地球化学会年会セッション「地球化学と生理学の融合:生体プロセスの研究から地球化学へ」	北海道大学・学術交流会館	50人	日本地球化学会年会セッションの主コンピーナーを沢田健が務めた。藻類脂質研究に関する生理学と地球化学の分野横断的研究成果を発表する年会セッションを開催した((発表件数15件))。
2011年7月31日	オープンハウス 筑波大学・大学説明会	筑波大学生命環境科学研究科	50人	研究紹介と藻類の展示を行った。希望者には研究室や培養室を案内した。

## §6 最後に

[目標] 研究目標を未知の脂質アルケノン合成系の解明と、培養条件と形質転換によるアルケノン合成能の充進を実現させ、得られた高機能株を活用する為の基盤技術の開発とした。

[背景] 約 25 年前、有機地球科学者によって海底堆積物から初めて発見された長鎖不飽和ケトン(アルケノン)は、その起源がわからず謎とされた。その後、ハプト藻類円石藻がその生産者であることが見い出された。その結果、培養実験がなされ、アルケノン分子が有するトランス型不飽和結合の数が円石藻の生育温度に依存してほぼ比例・直線的に変化することが見いだされた。そのことは、海底堆積物から発見されるアルケノン分子の不飽和結合の数を正確に分析することによって、その円石藻が生育したときの海水温を見積もるための「アルケノン古水温計」の確立につながって行った。現在、過去 30 万年間の海洋表面温度(円石藻の生息深度内)は、このアルケノン温度計により $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  の誤差で見積もられており、その値は  $^{18}\text{O}$  同位元素を用いる温度推定とよく一致している。

しかしながら、アルケノンがどのようなメカニズムで円石藻により合成されるのかという研究は、皆無に等しい状態であった。それはアルケノンに興味を持った生物学者が僅少で、代謝研究は特に少ない状況のなか、むしろ、有機物生産よりは炭酸カルシウム結晶形成に関する研究が多く見られた。最近、地球科学的データが集積され、中近東や北海における石油・天然ガスの起源が円石藻である証拠が間接的ではあるが蓄積されてきた。それは円石藻類の石油代替物質生産生物としてのポテンシャルを示すものである。そしてその発想のもとに本研究課題を提案した。

[達成度] 代謝の解析及び合成系の解明はほぼ達成に近づいたが、まだ完成にもう一步のところである。新しい代謝系を提案する投稿論文は、完璧な証拠を提示することを求められ続けており、改訂や解析し直しのための再実験などに突き当たっている。形質転換技術の開発は未完成で、「さきがけ」研究者が成功したアルケノン非生産株に対する方法を当人の協力関係のもとに導入し、アルケノン生産株の形質転換系の確立に今も取り組み、進展がみられてきたものの現在進行中の状況である。二次植物の形質転換系の確立は、技術的課題が多く、成功例はまだ 3 種に留まっている中、成功した場合の学術的意義は当然ながら、代謝改変の技術開発に果たす有用性は大変大きい。

本 CREST による資金供与により、メタボローム解析システム(写真:右)や研究者の集中的投入に大きな力となり、初めてアルケノン代謝研究に生化学的解析と分子生物学的研究が導入された。これまで主流であった有機地球化学者では成し得ない成果を出すことができたことの意義は非常に大きい。「アルケノン代謝機構の解明と基盤技術の開発」とした目標は、ほぼ達成に近づいたと考えている。しかしながら、物質生産性の増大に関してはまだ基礎知見の集積の段階に到達したところであり、光合成生産の増大と脂質合成への炭素フローの促進、藻類細胞自身の増殖速度の向上を担保する高密度バイオリクターの開発を早急に進める必要がある。



本 CREST で行った物質生産性の向上に焦点を合わせたアルケノン研究はこれまでにない新規性があり、当該研究分野に大きなインパクトを与えたと評価されている。解析技術の開発から取り組んだ長鎖 Fatty acyl-CoA の完全同定がなされれば、当初目的としたアルケノン合成系の解明が達成される運びとなり、その意義は大きい。

北大 G との連携は、既に細く長い 20 年の歴史がありスムーズな共同研究の実施ができたが、本 CREST の助成によりそのパイプを非常に太くでき、短期に様々なアルケノン研究上の課題を解決



することができ、大変効果的であり感謝している。チームとしてのプロジェクト運営も非常にうまくできたと考えている。

また、研究総括・アドバイザーの仲介により、「さきがけ」研究者との交流が十分でき、共同の成果を出すことができた点も非常に効果的であり、本チームに関して言えば、形質転換や光素子としてのココリスの活用など、新分野への展開に大きな力となった点は特筆すべき点である。

写真は本 CREST 経費で設置した藻類脂質タボローム解析システム。