慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	マイクロ細胞パターニング技術を利用した植物細胞集積型酸素供給パネルの創製
Sub Title	Carbon dioxide sequestration and oxygen generating system using a plant-like cell assembly technology
Author	宮田, 昌悟(Miyata, Shogo)
Publisher	
Publication year	2012
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2011.)
JaLC DOI	
Abstract	近年の二酸化炭素排出量の増大により, 地球温暖化や海水の酸性化など環境問題が深刻となっている. 本研究では水, 養分などの供給インフラ網を必要とせず, 植物系生物の光合成機能を活用した二酸化炭素固定・酸素供給デバイスの開発を目的として基盤技術の開発を行った. 具体的には光合成機能に優れた緑藻類細胞に着目し, 二酸化炭素固定・酸素供給デバイスの根幹となる藻類細胞の三次元的集積化技術を確立した. 藻類細胞を三次元集積することによって酸素生成速度が通常の懸濁培養と比較して2～4倍程度上昇する結果が得られた. また, 循環培養系を構築することで光合成による二酸化炭素の固定と酸素生成を6時間にわたり連続的に持続することが可能となった.
Notes	研究種目 : 挑戦的萌芽研究 研究期間 : 2010～2011 課題番号 : 22651052 研究分野 : 複合新領域 科研費の分科・細目 : ナノ・マイクロ科学, マイクロ・ナノデバイス
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22651052seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成２４年３月３１日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2010～2011
課題番号：２２６５１０５２
研究課題名（和文）　マイクロ細胞パターニング技術を利用した植物細胞集積型酸素供給パネルの創製
研究課題名（英文）　Carbon dioxide sequestration and oxygen generating system using a plant-like cell assembly technology
研究代表者
宮田 昌悟（MIYATA　SHOGO）
慶應義塾大学・理工学部・講師
研究者番号：70376515

研究成果の概要（和文）：
近年の二酸化炭素排出量の増大により,地球温暖化や海水の酸性化など環境問題が深刻となっている．本研究では水，養分などの供給インフラ網を必要とせず，植物系生物の光合成機能を活用した二酸化炭素固定・酸素供給デバイスの開発を目的として基盤技術の開発を行った．
具体的には光合成機能に優れた緑藻類細胞に着目し，二酸化炭素固定・酸素供給デバイスの根幹となる藻類細胞の三次元的集積化技術を確立した．藻類細胞を三次元集積することによって酸素生成速度が通常の懸濁培養と比較して 2～4 倍程度上昇する結果が得られた．また，循環培養系を構築することで光合成による二酸化炭素の固定と酸素生成を 6 時間にわたり連続的に持続することが可能となった．

研究成果の概要（英文）：
Recently, a raise of carbon dioxide gas causes various problems such as warming of the earth, acidification of seawater, etc.　The objective of this study is to develop a carbon dioxide sequestration and oxygen generating system using a plant-like cell assembly technology.
In this study, a three-dimensional cell assembly and culturing technique was developed based on alginate-beads cell culture.　Using our technique, the rate of oxygen generation increased 5-10 times larger than that of cell suspension culture.　Moreover, the process of oxygen generation and carbon dioxide sequestration was retained continuously for 6 hours.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2010 年度	1,800,000	0	1,800,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総　計	3,000,000	360,000	3,360,000

研究分野：複合新領域
科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学，マイクロ・ナノデバイス
キーワード：マイクロバイオシステム，植物細胞工学

１．研究開始当初の背景

近年，二酸化炭素排出量の増大は地球温暖化，オゾン層破壊といった深刻な環境問題を引き起こしている．この問題に対して，工業製品の二酸化炭素排出量削減のための技術革新といった工学的側面，光合成機能に優れ

る植物種の開発といった生物学的な側面の両面からの研究が広く進められている．これらの取り組みは一定の成果を挙げているが，問題解決には未だ至っていない．

特に，生物学的な手法として，光合成機能に優れる植物を開発するアプローチは，自然科学的手法として有用ではあるが，その一方で，これを植樹して成長させ，光合成機能による酸素供給が一定の効果を挙げるまでには長期の時間を要する．また，水や養分の供給のためのインフラ網の整備が必要不可欠であるため，莫大な設備コストが必要となることが予想される．他方，光合成による酸素の供給を人工的に実現する『人工光合成』に関する研究も進められているが，現時点ではエネルギー変換効率は低く，実用化までの道のりは未だ長い．

上述のような社会的情勢を鑑みて，環境バイオ分野では，水や養分の供給のための大規模なインフラ網を必要とせず，かつ，植物の光合成機能を最大限に活用した酸素供給システムの開発が強く望まれている．

２．研究の目的

本研究課題では，植物系細胞を三次元的に集積化して，マイクロスケールのスフェロイド形状とすることで光合成機能を活性化することを目的とした．さらに，植物系細胞スフェロイドを水分，養分の供給流路を備えたガラスパネルユニット内部に封入することで，高効率で酸素生成を実現するパネルの開発を行なった．

３．研究の方法

（1）試料および培養条件

本研究では，試料として微細緑藻類の Chlorella emersonii Shihira et Krauss を用いた．緑藻類はシロイヌナズナ T87 細胞に代表される植物細胞と比較して，光合成能，細胞増殖性ともに優れるため，光合成による酸素生成を目指す本研究の細胞ソースとしては適切であると考えられる．

Chlorella 細胞の顕微鏡画像を図 1 に示す．図 1 からわかるように Chlorella 細胞は単細胞系であり，通常培養では培地内にて懸濁培養を行う．本実験では培地には，C 培地(国立環境研究所)を用いて細胞を懸濁液が 50ml となるように調製して，三角フラスコ（に移植して培養した．培養条件は，インキュベータ内で温度 23 ℃，光量子束密度 4~10 μEmol/m²/s (12 h: ON, 12 h: OFF)とした．また，細胞数の計測については血球計数盤を用いて単位体積あたりの細胞数を定量した．

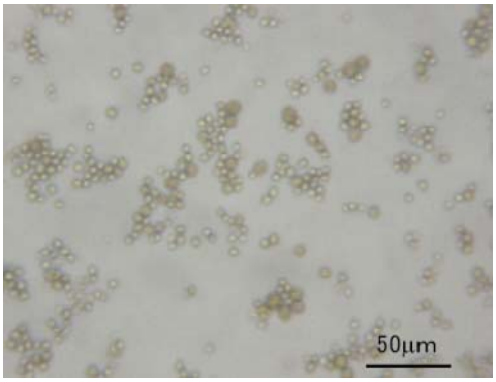

Fig.1　Chlorella 細胞

（2）懸濁培養と三次元培養の比較

本研究では通常は懸濁培養を行う緑藻類系の細胞を，組織工学的手法を用いてゲルビーズ内部で培養することで光合成機能の活性化することを目的とした．なお，ゲルビーズの作製は植物細胞や哺乳類動物細胞の培養に用いられるアルギン酸を採用した．培養手法による Chlorella 細胞の光合成機能の比較を行うため，光合成能の評価は懸濁培養とアルギン酸ゲルビーズを用いた三次元培養の条件で実施した．

Chlorella 細胞を包含するゲルビーズの作製では，細胞懸濁液とアルギン酸 2%溶液を 1:1 の割合で混合して，18G 注射針を装着したシリンジ内に採取した後，塩化カルシウム溶液に滴下することで作製した．ビーズの直径は 2～4 mm 程度であった．作製したゲルビーズは C 培地の入ったフラスコ内で培養した．また，各培養条件において細胞の増殖性を評価した．

（3）ガラス管への封入と循環培養系の構築

本研究では，ガラスパネル化のための pilot study としてガラス管に細胞を封入して循環系を構築することで持続的な培養を行った．

U 字型ガラス管に細胞懸濁液，または細胞包含ゲルビーズを封入することで培養ユニットを構築し，循環系に接続して培養を行うことで光合成能の評価を行った．循環機構の概略図を図 2，培養ユニットとして用いる U 字型ガラス管を図 3 に示す．循環培養系はペリスタポンプを動力源とし，培養チャンバ，溶存酸素濃度計をフラスコを介してタイゴンチューブで接続することで構築した．ペリスタポンプの流量は 580 ml/h に設定し，培養チャンバ内の Chlorella 細胞が光合成により生成した酸素を循環系内部の溶存酸素濃度計で測定した．

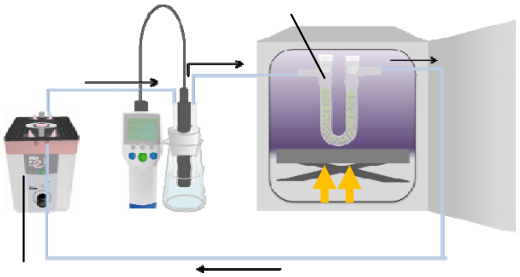

Fig.2　循環培養機構

Fig.3　培養ユニット

４．研究成果

（1）懸濁培養の増殖性

Chlorella 細胞の懸濁培養における増殖率を図 4 に示す．Chlorella 細胞は培養日数を経るごとに増殖することが認められた．また，継代数が 1 回の Chlorella 細胞の増加率が最も高く，継代数が増加するに従って Chlorella 細胞の増殖性は低下する傾向にあることが明らかになった．

（2）細胞包含ゲルビーズ培養による評価

培養日数に伴ってゲルビーズ内の Chlorella 細胞は懸濁培養と同様に培養日数の増加に伴って増殖した（図 5）．また，24 時間静置状態においた細胞ゲルビーズを入れたフラスコの外観を図 6 に示す．懸濁培養では Chlorella 細胞は沈澱してしまうのに対して，細胞ゲルビーズでの培養ではフラスコ内全体にビーズが浮遊しており，三次元的に細胞が配置された形態での培養が可能であった．また，細胞包含ゲルビーズ周辺に気泡の発生し，光合成機能が維持されていることが認められた．

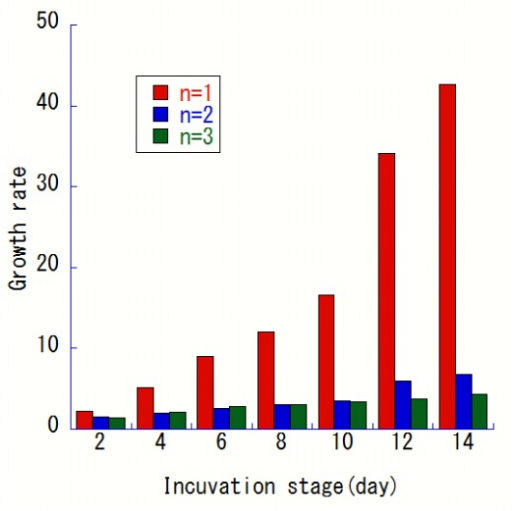

Fig.4　懸濁培養の増殖性

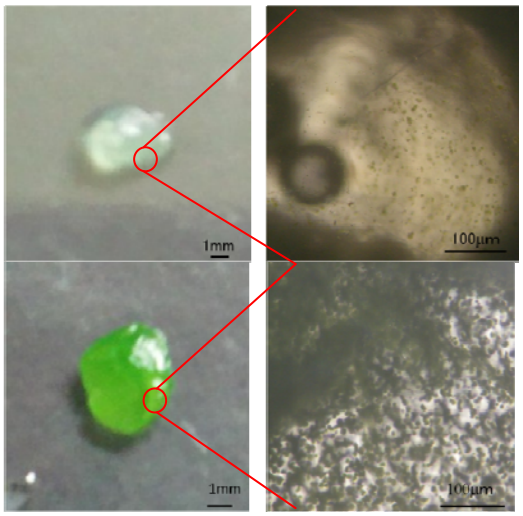

Fig.5　ゲルビーズ培養による細胞の増殖
(a.培養 2 日目　b.培養 40 日目)

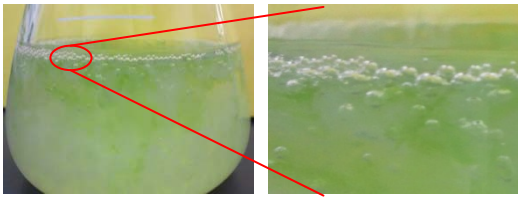

Fig.6　細胞ゲルビーズでの培養

（3）循環培養における光合成能の評価

循環培養における細胞包含ゲルビーズおよび細胞懸濁液での光合成能の評価結果を図 7 に示す．三次元培養は懸濁培養に比べて最大溶存酸素量が大きく，また，酸素生成速度も大きかった．懸濁培養では時間を経ると Chlorella 細胞が沈澱してしまうため，三次元培養と比較して，光の照射効率が低くなり光合成が十分に行われなかったことが推測される．一方で，細胞包含ゲルビーズによる三

次元培養では，細胞が沈殿せずに三次元的な配置が維持されるために均一に光が照射されて，酸素生成量が上昇したと考えられる．この結果より三次元培養における光合成能の優位性が確認された．また，循環培養を行うことで，両培養条件で藻類細胞の光合成は 6 h 維持することができた．

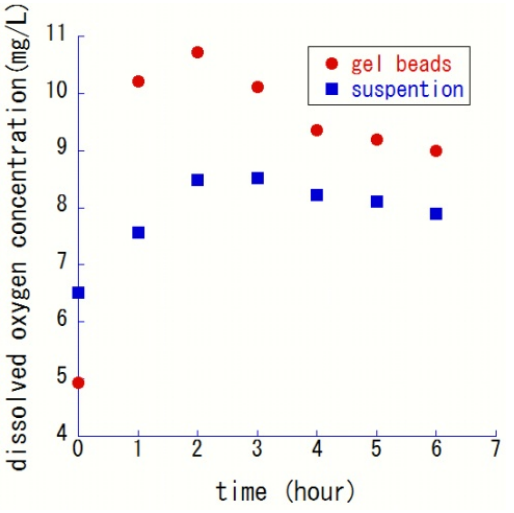

Fig.7　循環培養による光合成能の評価

（4）総括と今後の展開

本研究では，微細藻類 Chlorella の三次元集積技術の確立とガラス管への封入，循環培養系の構築を行った．また，構築された培養系を用いて光合成能（酸素生成能）の評価を行った．Chlorella 細胞の三次元培養では，同条件下の懸濁培養よりも光合成能に優れ，酸素生成速度が 2～4 程度上昇することが明らかとなった．また，培養液を循環することで 6 h にわたって光合成による酸素生成が維持された．

今後は循環機構内に二酸化炭素を人工的に供給できるガス交換機構を組み入れることで，長時間にわたり光合成能が維持可能な装置の開発を行う．

５．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Shogo MIYATA, Yu SUGIMOTO, "Control of Cellular Organization Around Collagen Beads Using Dielectrophoresis", Intelligent Automation & Soft Computing, 査読有, Vol.18 (2012), pp177-186.

〔学会発表〕（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

http://www.miyata.keio.ac.jp

６．研究組織

(1)研究代表者

宮田 昌悟（MIYATA　SHOGO）
慶應義塾大学・理工学部・講師
研究者番号：70376515

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし