

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 学 術 ）	氏名	Arafiles, Kim Hazel Valenzuela
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
Polyunsaturated fatty acid and carotenoid production from <i>Laminaria japonica</i> : Developing technologies for a cascading biorefinery process of brown seaweeds (海洋性未利用バイオマスを利用した高付加価値油脂生産技術の開発)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	秋 庸 裕	
審査委員	教 授	加 藤 純 一	
審査委員	教 授	中 島 田 豊	
審査委員	准 教 授	岡 村 好 子	
〔論文審査の要旨〕			
<p>気候の変動に対応しつつ、世界人口の増加を支える必要性に直面している現代、エネルギーや材料を持続的に供給する新たな手法が開発されている。特に、産業廃棄物や未利用植物などの再生可能なバイオマスを原料として、石油などの有限な化石資源を置き換える技術が注目されている。</p> <p>本研究は、海洋において賦存量が高い褐色大型海藻 <i>Laminaria japonica</i> (コンブ) を基質として、その水熱処理による分解、メタン発酵による燃料生産、脂質類の高付加価値物質生産および培養残渣からの有用物質回収からなるカスケード型バイオプロセスの一部を構成している。本研究を通じて、再生可能なバイオマスをエネルギー、食糧や各種有用物質の生産に利用するための技術基盤や知識体系の構築に貢献することをめざした。</p> <p>第2章では、褐藻 <i>L. japonica</i> を原料として高度不飽和脂肪酸 (PUFA) やカロテノイドなどの高付加価値脂質素材を生産する新しいプロセスを実証した。</p> <p>第2.2節ではまず、海洋性油糧微生物 <i>Aurantiochytrium</i> 属の PUFA およびカロテノイド生産株 KH105 がマンニトールやアルギン酸のような褐藻構成糖質を直接資化できないことを明らかにした。同株はグルコースやフルクトースなどの単糖の資化により増殖可能である。そこで、広範な基質特異性を示すポリオールデヒドロゲナーゼを有する酢酸菌 <i>Gluconobacter oxydans</i> を第一段階での微生物触媒として、マンニトールをフルクトースに変換した。続いて第二段階では、KH105 株を用いて、フルクトースからドコサヘキサエン酸 (DHA) やアスタキサンチンなどを生成した。10 L 容ジャーファーメンターによる実証実験では、<i>L. japonica</i> 乾燥粉末から水抽出したマンニトールを用いて、120 mg/L の PUFA (DHA 45%、生産率 13.1 mg/L/d) および 95 mg/L のカロテノイド (アスタキサンチン 20%、3.6 mg/L/d) を得た。これらの生産率は他の <i>Aurantiochytrium</i> 属株で以前に報告されたものと同等かそれ以上の値であった。この成果は、二段階発酵プロセスにおける様々な生体触</p>			

媒としての微生物の利用価値を強調した。

第 2.3 節では、褐藻 *L. japonica* の別の主要糖質であるアルギン酸の利用について議論した。最近単離されたアルギン酸分解菌 *Clostridium* 属 HUA-1 株および *Dysgonomonas* 属 HUA-2 株の共存培養による嫌気消化により、アルギン酸培地からは酢酸、褐藻抽出物合成培地からは乳酸やギ酸、コハク酸を主要成分として生成した。このとき、これら生成有機酸を主要炭素源として *Aurantiochytrium* 属 RH-7A-7 株が旺盛に増殖することを新たに見いだした。褐藻抽出物培地での HUA-2 株の発酵後の濃縮物（総有機酸 7 g/L）を用いた場合、RH-7A-7 株は各有機酸の 79~100%を資化して、DHA やアスタキサンチンを生成し、有機酸を介した二段階発酵プロセスのアルギン酸利用における有効性を実証した。

第 3 章では、鉄イオン誘導性の酸化ストレス負荷による *Aurantiochytrium* 属のアスタキサンチン力価の改善について述べた。カロテノイド低生産性の高増殖株 RH-7 への多段階の化学的突然変異誘発により、カロテノイド高生産株 RH-7A とアスタキサンチン高含有株 RH-7A-7 を得た。そのメタボローム解析は、カロテノイド前駆体の誘導や生合成に必要な酸化還元力の供給に関わる経路の亢進を示唆し、さらにストレス応答に関わる物質群の増加を認めた。実際、酸化ストレスを誘導する鉄イオンの添加によって、アスタキサンチン含量が有意に増加した。さらに第 2 章で述べた発酵プロセスの生産性向上のため、RH-7A-7 株を鉄イオンを含むフルクトース培地で培養したところ、アスタキサンチン生産性は 9.5 mg/L/d に達し、工業的実用微生物と同程度まで上昇させた。

本研究の成果は、著者らが提唱するカスケード型バイオプロセスにおいてエネルギー生産系と提携した場合、褐藻体の全利用を自立的かつ経済的に可能にする試算を成立させた。さらに、有機酸を介した二段階発酵プロセスが、多様かつ膨大な未利用資源から有用脂質を持続的に生産するバイオリファイナリーの実践的技術基盤として極めて有用であることを示した。これらの成果は、工学的および学術的に意義が大きい。したがって、本論文の著者は、博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認められた。