

(様式11)

論文審査の要旨 (課程博士)

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 田中 剛 (印)
副査 竹山 春子 (印)
副査 松田 浩珍 (印)
副査 宮浦 千里 (印)
副査 吉野 知子 (印)

学位申請者	<u>共同先進健康科学</u> 専攻 平成 <u>23</u> 年度入学 学籍番号 <u>11702110</u> 氏名 <u>梁 越</u>
申請学位	博士 (生命科学)
論文題目	Global lipidomic analysis for the marine oleaginous diatom <i>Fistulifera</i> sp. strain JPCC DA0580 toward the understanding of lipid metabolism (油脂高蓄積海洋珪藻 <i>Fistulifera</i> 属 JPCC DA0580 株の脂質代謝解明に向けた網羅的なリピドーム解析)

論文審査要旨 (2,000 字程度)

化石燃料の枯渇、及びその使用による気候変動への悪影響といった観点から、代替燃料の確保への関心は常に高く持たれている。中でも光合成生物を利用したバイオエネルギー生産は、CO₂削減効果への期待から、重点的な研究がなされている。近年、光合成効率が高く、高いバイオマス生産性を示す微細藻類を用いたバイオエネルギー生産に注目が集まっている。当研究室では、効率的なバイオディーゼル生産を目指し、油脂高蓄積海洋珪藻 *Fistulifera* 属 JPCC DA0580 株の研究を進めてきた。本研究では、当該株のストレス条件下でのリピドーム変化、およびそれを司る脂質代謝機構の解明を目指し、様々なマススペクトロメトリ分析技術を用いた網羅的なリピドーム解析を行った。以下に、本研究により得られた成果を各章ごとにまとめる。

第一章では、微細藻類の脂質及び脂質代謝、脂質の生理機能、脂質代謝の解析方法に関する既往の知見についてまとめ、微細藻類、特に珪藻における脂質代謝、および脂質蓄積メカニズムに関する知見の蓄積が不十分であることを示すことで、本研究の目的と意義を明らかにした。

第二章では、栄養塩が十分に存在する培養条件と、栄養塩が枯渇した培養条件の、異なる二つ栄養条件下で培養した際の、該当株のリピドーム変化を詳細に解析した。一般的に栄養枯渇条件は微細藻類の脂質蓄積量を増加させることが知られている。しかし、脂質組成への影響は種特異的であり、不明な点が多い。そこで、それぞれの培養条件で得られる総脂質含量、中性脂質・糖脂質・リン脂質の割合、得られる脂肪酸メチルエステル (FAME、バイオディーゼルの原料) の組成、及び主要な脂質の構造を解析した。その結果、栄養ストレスが当該株の脂質含量を増加させるのみならず、得られた脂質を燃料として利用した際の、燃料特性の向上にも寄与できる可能性を見出した。具体的には、脂質を蓄積した藻体から直接、FAME を調製した場合、その組成から計算したセタン価、動粘度、ヨウ素化といった燃料特性の理論値は、栄養枯渇条件で培養した藻体の方が向上していた。これらの値が米国・欧州・および日本における基準を満たすものであったことから、栄養枯渇条件で培養した当該株はバイオ燃料生産に適した藻体であることが示された。一方、該当株から得られる脂質を分画し、中性脂質画分を調製したところ、いずれの栄養条件で培養した藻体からも基準を満たしたバイオディーゼルを生産できることが示された。リン脂質、糖脂質画分からは基準を満たすことができなかった。また、得られた FAME の組成解析から、最も酸化しやすいエイコサペンタエン酸 (EPA)

の生産が、当該株では他の珪藻と異なり、 $\omega 6$ 経路のみから合成されていることが示唆された。更に、ESI-Q-TOF-MS&MS/MS による脂質の構造解析から、当該株の脂質は、高等植物や緑藻と異なり、ほとんどが葉緑体で合成されていることが示唆された。以上の結果を統合し、当該株のグリセロール脂質の代謝マップを作成した。

第三章では、第二章で得られたリピドーム変化をより詳細に解析するため、栄養枯渇条件下におけるリピドーム変化を、UPLC-TOF-MS を用いて経過時間ごとにモニタリングした。その結果、栄養枯渇条件に移した後の 24 時間に顕著な変化が観察された。特に極性脂質量は約 50%減少した。このような劇的なリピドームの変化は、細胞分裂や生長を強く関係すると考えられた。また、葉緑体の体積の減少に伴い、主な葉緑体の膜脂質である monogalactosyldiacylglycerol (MGDG)、digalactosyldiacylglycerol (DGDG)、sulfoquinovosyl diacylglycerol (SQDG)、phosphatidylglycerol (PG) の減少も観察された。一方、24 時間後からは、特定の DGDG と SQDG が増加した。これはリン源の枯渇のためにリン脂質が合成できなくなったため、DGDG を PC の、SQDG を PG の代替脂質として過剰生産したためであると考えられた。更に、TAG に限った EPA 含有量をモニタリングしたところ、わずかな増加が見られた。この原因として、栄養枯渇に伴う EPA を含む極性脂質 C36 の MGDG、DGDG および PG) の減少により、余剰となった EPA が TAG に組み込まれたことが考えられた。また、総 phosphatidylcholine (PC) 量が減少するのに対して、EPA の前駆体脂肪酸を含む PC の減少が小さいことから、栄養枯渇条件下においても EPA の *de novo* 合成は活性を保っていることが示唆された。このことも、TAG 内の EPA 含有量が増加した一因と考えられる。TAG は極性脂質が持っていた余剰 EPA や新たに合成される EPA を分子内に取り込むことで、EPA が過剰な遊離脂肪酸となることを防ぎ、細胞毒性を防止するといった生理機能をもつことが予想された。

第五章では、本研究により得られた栄養ストレス条件下における当該株の詳細な脂質組成変化に関する研究成果をまとめ、脂質代謝マップの高精度化や、代謝改変による油脂生産能力の改変・向上について展望を述べた。