

(様式5)

指導教員 承認印	主	副	副
	Ⓔ	Ⓔ	Ⓔ

学 位 （ 博 士 ） 論 文 要 旨

論文提出者	生物システム応用科学府 共同先進健康科学専攻（博士課程） 平成 <u>25</u> 年度入学 氏名 <u>長田 響子</u> Ⓔ				
主指導教員 氏 名	田中 剛	副指導教員 氏 名	竹山 春子	副指導教員 氏 名	
論文題目	二段階培養における海洋珪藻 <i>Fistulifera solaris</i> のオイル蓄積機構の解析				
論文要旨 (2,000 字程度) 本研究は、栄養欠乏条件下で <i>F. solaris</i> がオイルを高度に蓄積するメカニズムをエネルギー代謝や物質代謝の動的変化を解析することにより包括的に理解することを目的とし、オイル高蓄積の細胞生理学上の意義を明らかにすることを目指した。また、これらのメカニズム解明を通して、 <i>F. solaris</i> を用いたバイオディーゼル燃料の生産性向上に向けた可能性について言及した。本研究により得られた成果を各章ごとにまとめ、成果を総括するとともに得られた成果に基づく今後の展望を示す。 第2章では、 <i>F. solaris</i> のリポドーム解析、トランスクリプトーム発現解析によるオイル高蓄積に資するエネルギー代謝や物質代謝の動態を明らかにした。同株の特異な物質代謝として、脂肪酸合成経路、グリセロ脂質合成経路等の恒常的な活性化、及び脂肪酸合成の競合経路となるβ酸化、TCA回路の抑制があり、このことがオイルの高蓄積能に寄与しているものと考えられた。この結果は、リポドーム、及び細胞内小器官の体積変化の解析を通じた表現型ともよく一致することから、上記の特異な物質代謝によってオイルの高蓄積を実現しているものと結論づけた。また、栄養欠乏条件下における葉緑体と油滴の体積変化を測定したところ、24時間から72時間に掛けては、油滴体積の増加量と葉緑体体積の減少量に相関性があることが分かった。一方で、当該培養期間の前後では相関性が確認されなかったことから、各々のフェーズで異なるオイルを蓄積する機序が存在すると推測された。そこで葉緑体と油滴の体積変化パターンに基づき、栄養欠乏条件下での培養開始から24時間までの培養期間をPhase I、細胞分裂を終えた24時間から72時間までの培養期間をPhase II、72時間後以降の培養期間をPhase IIIと3つのフェーズに分類し、各フェーズにおいてトランスクリプトーム発現解析とリポドーム解析の結果を照合した。その結果、Phase IIにおいては葉緑体膜脂質の再構成、Phase IIIにおいてはオイルの <i>de novo</i> 合成と、段階的なプロセスを経てオイル蓄積が進行していると					

考えられた。また、*F. solaris*におけるオイル高蓄積能は、光合成に伴う余剰のNADPHの消費する場としてオイル合成が誘導されることで獲得しているという仮説を得た。

第3章では、第2章における仮説、「*F. solaris*が栄養欠乏条件下で余剰が生じるNADPHを脂肪酸合成反応で消費し、細胞内の酸化還元バランスを維持している」ことを検証することを目的とした。NADPH合成の律速因子と考えられるglucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) 遺伝子を強発現することにより、人為的に増加させた細胞内のNADPHが*F. solaris*のオイル蓄積量の向上に寄与するかを検証した。G6PDの強発現株において、細胞内のNADPH量が向上し、培養初期においてオイル含量の有意な向上が確認された。また、同じペントースリン酸経路のphosphogluconate dehydrogenase (PGD) 遺伝子の強発現株においてもNADPH量、オイル含量ともに向上することを確認した。オイル含量は細胞内のNADPH量の高いG6PDの強発現株において有意にオイル含量が高くなっており、NADPH依存的なオイル合成がなされていることが考えられた。さらに、2章の結果を踏まえると、脂肪酸の再構成が優勢であるオイル蓄積期において余剰のNADPHが存在し、オイル合成が促進されているものと推察された。また、メタボリックエンジニアリングによりNADPHを増大することで、オイル生産性の向上が可能であることが示された。

以上の研究成果の学術的な意義は、オイルを高度に蓄積する*F. solaris*の特異な代謝メカニズムの包括的な見解を示すものであるとともに、*F. solaris*が細胞分裂を伴わないフェーズにおいても光合成活性を有し、それに伴うNADPH生産がオイル合成に寄与しているという新たな知見を提供するものである。これらの知見は、バイオディーゼル燃料生産の候補となっている珪藻綱を含む他の微細藻類へ適応できることも想定され、その意義は大きいと言える。また、メタボリックエンジニアリングによって*F. solaris*のオイル生産性を向上させる研究としても位置付けられ、バイオディーゼル燃料生産の効率化に寄与すると考えられることから、本研究の工学的な意義も大きい。