

# 高知大学学位授与記録

本学は、次の物に博士（学術）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

## 目次

学位記番号	氏名	学位論文の題目	ページ
甲総黒博第47号	木下 優太郎	Development of Biomass Production Technology Using a Bacteria-Multicellular Algae Co-culture System 細菌-多細胞藻類の共培養系によるバイオマス生産技術の開発	1

ふりがな	キノシタ ユウタロウ
氏名（本籍）	木下 優太郎 (愛媛県)
学位の種類	博士 (学術)
学位記番号	甲総黒博第 47 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位授与年月日	令和 4 年 9 月 20 日
学位論文題目	Development of Biomass Production Technology Using a Bacteria-Multicellular Algae Co-culture System 細菌-多細胞藻類の共培養系によるバイオマス生産技術の開発
発表誌名	(1) <u>Kinoshita, Y.</u> , Sato, Y., Sakurai, T., Yamamoto, H. & Hiraoka, M. Development of blade cells and rhizoid cells aseptically isolated from the multicellular leafy seaweed <i>Gayralia oxysperma</i> , CYTOLOGIA, 87(1):17-22
	審査委員 主査 教授 平岡 雅規 副査 教授 飯國 芳明 副査 講師 比嘉 基紀

論文の内容の要旨

現在、海洋温暖化の影響が日本沿岸の生態系ではっきりと表れており、特に天然採取や海面養殖による海藻生産が不安定化して減産が深刻になっている。海藻の生産量を安定化させる方策として陸上タンク生産がある。かつて天然採取で全国一の生産量であった四万十川汽水域の高級青海苔・スジアオノリは、年々収穫量が減少し 2020 年度からゼロになっている。その一方で、スジアオノリの陸上タンク生産の技術が全国に広まり、天然採取の減産分を補えるようになった。本研究では、先行するスジアオノリの陸上生産技術を取り入れて、これまでほとんど研究対象とされてこなかった葉状の多細胞藻類ヒトエグサを取り上げ、陸上タンク生産を試みた。ヒトエグサは、南西諸島から東北以南の黒潮流域圏に分布し、スジアオノリと同様に近年減産しているが、佃煮やスープ具材として使われ、生産規模はスジアオノリのおよそ 10 倍で市場が大きい。しかし、ヒトエグサを陸上タンク生産するには、種苗を大量に安定的に生産する技術の開発が不可欠であった。本研究では、ヒトエグサ細胞と海洋細菌の相互作用を顕微鏡観察し、新しい藻類細胞の発現現象を発見した。細菌との共培養による藻類細胞の新規の増殖発現現象を利用して、ヒトエグサ種苗を短期間で大量生産する基盤技術を確認した。さらに、その新技術で作製したヒトエグサ種苗を屋外に設置した大型タンクに供給して培養試験を繰り返し、事業レベルでの生産が可能であることを実証した。本博士論文は 5 章で構成され、第 1 章は緒言、第 2 章から第 4 章が研究成果、第 5 章が総合考察から成る。以下に、第 2～4 章を概説する。

ヒトエグサ類が孢子から葉状多細胞体に発生するには、海洋細菌が分泌する形態形成誘導物質が必

要であり、無菌で形態形成物質が存在しない培地中では、ヒトエグサ類は多細胞形態に発生せず、複数の単細胞が集合した不定形の細胞塊になることが報告されていた。この細胞塊に振動を与えると、容易に単細胞を単離できる。しかし、これまで不定形の細胞塊は、発生に失敗した異常な細胞群として研究対象とされてこなかった。第2章では先行研究で使われていたヒトエグサ類のマキヒト工という種類について、細胞塊を構成する2種類の細胞(葉身細胞と仮根細胞)を単離して培養し、発生過程を詳細に観察した。その結果、葉身細胞は分裂可能で、生成された娘細胞は葉身細胞と仮根細胞のどちらにも分化可能であることが示された。一方、仮根細胞には分裂能力がなく、長さ1mmを超えて大きく伸長した。アオノリ類では、葉身細胞ではなく仮根細胞に全能性があると報告されていたので、ヒトエグサ類では逆の結果になった。これまでアオノリ類とヒトエグサ類はどちらも葉状の多細胞体であり、類似の形態であったため、同じような発生システムをもつとみなされていたが、両者の違いが明らかにされた。

この第2章の内容は細胞学の学術誌 *Cytologia* で発表された。

Kinoshita, Yutaro, et al. Development of Blade Cells and Rhizoid Cells Aseptically Isolated from the Multicellular Leafy Seaweed *Gayralia oxysperma*, *CYTOLOGIA* 87 (2022) : 17 -22.

第3章では、大型の養殖種ヒロハノヒトエグサの単細胞増殖した体細胞(第2章の葉身細胞)をいくつかの海洋細菌と共培養し、形態形成や増殖を調べた。結果として、共培養する細菌の種類によって、藻類細胞には、多細胞成長、細胞分裂促進、仮根細胞分化の3つの異なる現象が誘導されることが発見された。ヒトエグサ類の先行研究では、細菌の共培養による影響は、多細胞成長のみが報告されていたので、本研究はさらに2つの現象が細菌によって誘導されることを明らかにした。これは藻類細胞と細菌の多様な相互作用の世界が広がっていることを明示しており、藻類細胞と細菌の共生進化を研究するモデルになりうる。

第4章では、第3章でみつかった細菌による3つの誘導現象のうち、細胞分裂促進と多細胞成長を組み合わせて、藻類細胞の増殖様式を切り替えて、効率よく大量種苗生産する方法を考案した。これは、これまでにない全く新しい細菌との共培養による藻類バイオマスの生産技術である。この方法でヒロハノヒトエグサ種苗を作製して6トン容量の屋外大型タンクで繰り返して生産試験した。その結果、1ヶ月の培養で最大10kg(湿重量) /6トンタンクの食用ヒロハノヒトエグサを生産できることを実証した。

本学位論文では、藻類細胞と細菌のミクロの相互作用を丹念に観察して調べ、その相互作用を組み合わせて、藻類バイオマスを効率よく生産する新規の方法を提示した。海洋植物の発生学、生理学および応用藻類学、共生の進化学といった多分野に貢献し、興味深い知見を含んでいる。黒潮圏域で未知であった細菌-藻類の共生現象の多様性の一端を明らかにし、海洋温暖化で減少する水産資源を補う方策を実証して提示しており、黒潮圏科学の発展に貢献する成果といえる。

## 審査の結果の要旨

令和4年7月27日にオンラインで公開審査会が開催され、学位論文提出者によって研究内容が発表された。発表では、提出された学位論文の内容に沿って説明がなされた。質疑応答では、細菌が生成する藻類細胞に対する形態形成因子の種類に関する質問や、養殖水に自然に含まれる細菌の海藻生産に対する影響についての質問などがあり、それらの質問に対して適切な回答がなされた。

続いて8月1日にオンラインで最終試験の試問が行われ、公開審査会に引き続き研究対象となった海藻や海藻陸上生産について、生態学的な観点および社会科学的な観点から質問がなされた。それらの質問についても適切に回答がなされた。

以上の審査での内容を総合的に検討した結果、学位論文提出者が博士の学位を受けるに相応しい学識を有すると審査委員全員で判断した。