

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 渡部 和郎

エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などのn-3系列高度不飽和脂肪酸は、n-6系列のアラキドン酸由来のエイコサノイドの生成を抑制し、血栓性の成人病やアレルギー、大腸ガンなどの疾病の予防あるいは治療に有用であることが知られている。これらのEPAやDHAは海産魚に多く含まれており、現在は魚油から精製したEPAやDHAが医薬品や健康食品として用いられている。これらn-3系列高度不飽和脂肪酸の需要は将来的に増加することが予想され、EPAとDHAの安定した大量供給を目的として新しい生産源の確保が重要な研究課題である。

その有力な候補はタンク培養が可能な微生物であり、海産の微細藻類、深海性の細菌、陸棲のカビ、コケ、藻類などが検討されている。本研究の特色は、EPAあるいはDHAを産生する細菌は微細藻類などとともに海洋における食物連鎖の一次生産者であろうという作業仮説に基づいて、EPAあるいはDHA産生細菌の分離源として、これまであまり調べられていない海産魚などの腸内細菌に着目した点である。すなわち、魚類を中心に海産動物の消化管内容物から、常温常圧で大量にEPAあるいはDHAを産生する新しい細菌の分離に成功した。さらに、分離された新しい細菌におけるEPAあるいはDHAの生合成経路に関する研究を行い、この細菌では新しい不飽和化機構によってn-3系列の高度不飽和脂肪酸が合成されていることを示した。

本論文は二部から構成されている。第一部はEPAあるいはDHA産生細菌の分離と脂質・脂肪酸組成の解析であり、第二部はEPA産生細菌の脂肪酸合成系の解明と新しい不飽和化機構の提案である。各部の要旨および研究の特色は下記のとおりである。

EPAあるいはDHA産生細菌の分離と脂質・脂肪酸分析

海産魚など14種類のサンプルから得られた7391株の中から、112株のEPA産生細菌を分離し、これらの内、最大の生産量を示した株は、サバ (*Pneumatophorus japonicus*) から分離されたSCRC-2738で、EPA生産量は15 mg/l 培養液、総脂肪酸の25 wt%の高い値を示した。一方、約100種類のサンプルから得られた40392株の中から、10株のDHA産生細菌を分離した。分離源はいずれもニギス (*Japanese argentine*) であった。これらの内、SCRC-21406のDHA生産量は4 mg/l 培養液、総脂肪酸の25 wt%の高い値を示した。SCRC-2738は*Shewanella*属の新種に分類された。SCRC-21406は既に報告されている*Vibrio*属とは異なる新種と考えられる。

これまでに報告されたEPAあるいはDHA産生細菌は主に深海から分離されているが、これらの至適生育条件は低温高圧である。常温常圧では生育ばかりでなく、EPAあるいはDHAの生産量も低下した。しかしながら、本研究で分離した産生細菌は、いずれも常温常圧で培養が可能であり、EPAあるいはDHAの供給源として有用であることが示唆された。

本研究では、代表的なEPA産生細菌 (SCRC-2738) とDHA産生細菌 (SCRC-21406) の脂質・脂肪酸組成を解明した。SCRC-2738、SCRC-21406とも主要な脂質はホスファチジルエタノールアミン (PE) とホスファチジルグリセロール (PG) であった。両菌の主要な高度不飽和脂肪酸は各々EPAとDHAであり、これらの脂肪酸はPEよりもPGに多く局在した。高度不飽和脂肪酸以外の主要な脂肪酸は、両菌ともパル

ミトオレイン酸であった。SCRC-2738の生育温度の上限は30℃であり、25～27℃で生育速度が最も速かった。EPAの生産量は10～20℃が最も高く、30℃では検出限界以下に低下した。一方、パルミトオレイン酸の生産量は20℃で最も低く、15℃以下および25℃以上では上昇した。この結果は、EPAよりもパルミトオレイン酸の方が、SCRC-2738の低温適応に寄与していることを示唆している。SCRC-21406の生育温度の上限は19℃であり、12～18℃で生育速度が最も速かった。DHAの生産量は4～12℃で最も高く、16℃では50%以下に低下した。パルミトオレイン酸の生産量は4～16℃ではほとんど変化はなかった。また、生育温度範囲から判断すると両菌とも好冷細菌であるが、SCRC-21406の方がより好冷性である。

EPA産生細菌（SCRC-2738）の脂肪酸合成系および不飽和化機構の解明

SCRC-2738の菌体を破碎して得た細胞質画分と膜画分の粗酵素を用いた*in vitro*の脂肪酸合成実験によって、細胞質画分にアシルキャリアプロテイン（ACP）およびNADPHとNADH要求性の新規合成系と鎖長延長系が存在することが示された。新規合成系の最終生成物はパルミトイル-ACPとパルミトオレイル-ACPであった。このことは大腸菌と同様の嫌氣的不飽和脂肪酸合成経路が存在することを示唆した。鎖長延長系は炭素鎖長20（C20）までの合成活性を示した。アシル-ACPを基質としたC20までの鎖長延長活性が、細胞質画分に存在することはこれまでに知られていない。一方、膜画分にはアシル-ACPを基質とする飽和酸からジエン酸までの不飽和化活性が検出された。この活性はフェレドキシンおよびフェレドキシンNADP⁺レダクターゼの存在下で上昇した。嫌氣的経路で生成するモノエン酸の二重結合の位置は、EPAの二重結合の位置と矛盾すること、アシル-CoAおよびアシル-脂質型の不飽和活性は検出されなかったことから、アシル-ACP型の不飽和化酵素系がEPAの合成に関与することが示唆された。以上の結果から、SCRC-2738には、アシル-ACPを基質としたC20までの鎖長延長系とアシル-ACPを基質としてポリエン酸を生成する不飽和化系を特徴とする新規な経路である可能性が示唆された。

現在まで、植物に存在するアシル-ACP型やアシル-脂質型の不飽和化酵素、動物に存在するアシル-CoA型の不飽和化酵素が報告されていた。本研究の特色は、植物や動物にはないアシル-ACPを基質とする不飽和化系の存在を証明したことである。

本論文の内容の大部分は、関係分野で世界的に評価されている雑誌に既に印刷公表されている。また、本論文の第一部は、石川千夏子、矢澤一良、近藤 聖、川口昭彦各氏との共同研究であり、第二部は、石川千夏子、井上仁美、Deng Cenhua、大塚伊津子、鎌田正純、富田美穂、村松 宏、矢澤一良、近藤 聖、川口昭彦各氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を推進したものであると判断できる。

よって、本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。