

氏名	森本 一輝		
授与学位	博士(工学)		
学位記番号	博乙第39号		
学位授与年月日	令和4年9月6日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項		
学位論文題目	新規に分離した酵母の諸性質とバイオエタノール生産への応用に関する研究 Study on characterizing newly isolated yeast, and on their application for bioethanol production		
論文審査委員	主査 教授	小西 正朗	
	教授	八久保 晶弘	
	教授	佐藤 利次	
	准教授	邱 泰瑛	
	准教授	陽 川 憲	

## 学位論文内容の要旨

化石燃料への依存を低減し CO<sub>2</sub> 排出量を削減するため、環境負荷の少ないバイオエタノールの需要が高まっている。現在のバイオエタノールはトウモロコシやサトウキビを原料としており、食料との原料競合が問題とされている。藻類の紅藻は原料が海洋由来であるために農耕地と資源が競合しないことや陸生植物原料と比較して前処理の容易であるなどの利点が多い。しかし、紅藻には既存のバイオエタノール生産で使用されている酵母 *Saccharomyces cerevisiae* がエタノール発酵できないガラクトースが多く含まれているため、発酵に用いる酵母を変更する必要がある。そこで、環境中の酵母の多様性に着目し、紅藻を原料としたバイオエタノール生産に適した酵母を環境中から分離し、その有用性を評価した。

第1章では北海道の環境中からエタノール耐性を示す酵母を154株分離した。更にグルコース発酵性を指標に82株の酵母を選抜した。得られた株の糖の発酵性および資化性、種々のストレス耐性の評価、rRNAのDNA配列に基づく系統分類により、酵母ライブラリーを作成した。発酵性試験と系統分類の結果に基づき、ガラクトース発酵性を示す *Schizosaccharomyces pombe* KRT29株、*Torulaspora quercuum* KRT82株、*Torulaspora quercuum* KRT85株、*Vanderwaltozyma verrucispora* MBF12株、*Candida tropicalis* SRF61株の計5株を紅藻由来のバイオエタノール生産候補株として選抜した。

第2章では高濃度のガラクトースやグルコースを含む培養液中での分離株のエタノール生産能力を評価した。*T. quercuum* KRT82株、*T. quercuum* KRT85株、*T. quercuum* NBRC 11403株で、100 g/Lのガラクトースから72 hの培養でそれぞれ  $54.77 \pm 2.18$  g/L、 $59.92 \pm 2.18$  g/L、 $16.44 \pm 2.19$  g/Lのエタノールを生産し、分離株は、理論収量に匹敵する生産性を持つことを明らかにした。これらの菌株を用いて紅藻バイオマス加水分解した糖化液からエタノールを生産したところ、*T. quercuum* は24-36時間で8-10 g/Lのエタノールを生産した。培地体積あたりのエタノール生産性は0.235-0.419 g/L/hに達した。この生産性は報告のある藻類加水分解液からのエタノール生産と比べて、最も高い水準であった。加えて糖化液中で凝集性を示すことも明らかにした。凝集性を活かして、繰り返し回分培養によるエタノール生産の効率化についても検討した。39 hの培養中に3回の繰り返し操作をすることにより、エタノールの初発培地体積当たり生産性が0.980 g/L-working volume/hで、初発培地の体積を基準に38.2 g/L-working volume相当のエタノールを生産した。本研究により紅藻バイオマス由来のバイオエタノール生産を効率化する酵母として *T. quercuum* を見出し、優れた凝集性を利用した繰り返し回分培養により生産効率を大きく向上させるに至った。

## 審査結果の要旨

炭素固定化能力が高く、耕作地と競合しにくいことから注目されている大型藻類バイオマス資源(ブルーカーボン)の有効利用のひとつとして、バイオエタノールへの変換が注目されているが、発酵を担う酵母が利用しにくい糖が含まれていることが課題であった。

本論文は、糖含量が多い紅藻にガラクトースが多く含まれていることに着目し、ガラクトースをエタノールに変換する効率がよく凝集性を持つ酵母 *Torulasporea quercuum* を環境中から見出し、紅藻を原料とするバイオエタノール生産に適していることを示した初めての報告したものである。また、見出した酵母の性能は既往研究で開発された *Saccharomyces cerevisiae* の遺伝子組換え体等を用いたと比べても高く、凝集性を利用した繰り返し回分培養でさらに生産効率を向上できることを示した。

申請者は、バイオ燃料製造に適した新たなバイオ資源を見出し、その利用可能性について新しい知見を得たものであり、バイオ燃料製造技術、カーボンリサイクル技術に対して学術的貢献が大きいと判断できる。したがって、申請者は博士(工学)の学位を授与される資格があるものと認められる。