

The Latest Findings and Outlook of Marine Biorefinery Research for Macro Algae: Aiming for Development of Research Findings in the Field of Food Chemistry

# 大型藻類を対象としたマリンバイオリファイナーリー研究の成果と展望 —食品化学分野での新展開を目指して

柴田 敏行 田中 礼士 三宅 英雄

Toshiyuki Shibata

Reiji Tanaka

Hideo Miyake

三重大学大学院生物資源学研究科

三重大学海藻バイオリファイナーリー研究センター

三重県津市栗真町屋町1577

Graduate School of Bioresources, Mie University

Seaweed Biorefinery Research Center, Mie University

1577 Kurimamachiya-cho Tsu city, Mie 514-8507, Japan

## Summary

Biorefinery is a coined word defined as the technology for manufacturing biofuels and chemical products using biomass as a raw material. We are vigorously conducting research on marine biorefinery using the Japanese Lessoniaceae (*Eisenia bicyclis*, *Eisenia arborea*, *Ecklonia cava*, *Ecklonia kurome*, and *Ecklonia stolonifera*) as biomass. In this review, we introduce the latest research results in the following three areas: (1) phlorotannins and their new physiological functions, (2) separation and application of seaweed-degrading bacteria, and (3) production of rare sugar from alginic acid. Phlorotannins, which are specifically contained in brown algae, are attracting attention as new functional polyphenols. As a new physiological function, it was found that phlorotannins (eckol and its oligomers) contained in the Lessoniaceae have anti-glycation activity superior to aminoguanidine, a synthetic anti-glycation agent. A

marine bacterium *Formosa haliotis* strain MA1, which was newly isolated from the gut of abalone, has many hydrocarbon degradation genes to degrade brown algal polysaccharides. Alginic acid is the mucus polysaccharide most abundantly contained in brown algae. It was also revealed that the strain MA1 has the ability to produce succinic acid from alginic acid. Furthermore, a marine bacterium *Falsirhodobacter* sp. alg1 has two novel alginate lyases (AlyFRA and AlyFRB) that have been isolated from spoilage of the brown algae. We succeeded in producing the rare sugar (4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid) from alginic acid with high purity and high yield using recombinant proteins of the alginate lyases.

In September 2016, we established the Seaweed Biorefinery Research Center at Mie University in order to globally disseminate our research results and products.

## 1. はじめに

バイオリファイナーリーとは、バイオマスを原料にバイオ燃料や化成品を製造する技術を意味する言葉である。著者らの研究グループは、平成23年度から28年度にかけて国立研究開発法人科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業CREST「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」の研究領域(研究総括:松永 是 東京農工大学元学長)<sup>1)</sup>における採択課題「藻類完全利用のための生物工学技術の集約」

(研究代表:植田 充美 京都大学大学院農学研究科教授)<sup>2)</sup>に参画し、大型藻類を原料としたバイオリファイナーリー技術の開発研究(担当課題:有用フィトケミカル活用のための大型褐藻類対応プラットフォーム技術の開発)に取り組んだ。具体的には、バイオリファイナーリー原料の対象となりうる海藻種の選定、海藻分解性細菌の探索やそれらの持つ糖質分解酵素を用いた糖化技術の開発、海藻類に特異的なフィトケミカルの探索と生理機能解析に関する研究を担当した。このCREST研究では、バイオ燃料生産のみならず、海藻ポリフェノールの活用、海藻多糖の微

生物分解と希少糖・有機酸生産など食品化学の研究分野にインパクトを与える知見を得ている。本稿では、食品化学分野への展開に焦点をあてながらマリンバイオリファイナリー研究、すなわち「海藻からのものづくり」に関する研究の進捗と今後の展望について紹介する。

## 2. バイオリファイナリーに適した海藻類と養殖に向けた取り組み

バイオリファイナリーの原料となるバイオマスは、第一世代とされるトウモロコシ等の可食系バイオマス、第二世代とされる木材や稲わら等の非可食系バイオマスが挙げられる。これらのバイオマスは、国土の狭い日本では耕作地を確保出来ないため、化石燃料同様、輸入により物量を確保する必要がある。したがって陸上植物を原料としたバイオリファイナリーは、日本では実現が難しいと考えられている。一方、日本を囲む海洋に目を転ずれば、約447万km<sup>2</sup>にもおよぶ広大な領海と排他的経済水域が存在しており、そこに生育する藻類（海藻類と微細藻類）は、非常に魅力的なバイオマスに映る。

バイオリファイナリーは、バイオエタノールなどバイオ燃料生産に関する技術開発のみ注目されるが、ライフサイクルアセスメントの観点からトータルプロセスの経済性を評価しなければ確立しない。海洋性バイオマスの中で褐藻類は、アルギン酸やフコイダンといった既知の機能性多糖類やフコキサンチン、フコステロール、テルペン類など陸上植物には無い代謝産物を生産・保持している。特に後述するアラメ属・カジメ属褐藻類やいくつかのヒバマタ目褐藻類には、それらに加えてフロロタンニン類と呼ばれる海藻ポリフェノールが豊富に含まれている<sup>3)</sup>。このような褐藻類由来の代謝産物は、優れた生理機能を持っており、食品添加物やサプリメント市場でのニーズも高い。褐藻類から、①物量を確保出来る、②食用としての用途と競合しない、③養殖が可能である、これらの制約をクリア出来る藻種を検討した結果、日本発のマリンバイオリファイナリーに適した原料バイオマスとして、CREST研究では、アラメ属褐藻類（アラメ、サガラメ）とカジメ属褐藻類（カジメ、クロメ、ツルアラメ）(図1)が最良と結論した<sup>2)</sup>。

アラメ属・カジメ属褐藻類は、コンブ目カジメ科に属する多年生の大型褐藻類でありコンブ型生活史をもつ<sup>4,5)</sup>。図2は、著者らがフィールド調査にて撮影したサガラメとカジメの海中林の画像である。画像データに見られるよう

に、大規模な海中林（海藻群落）を形成することが本種の特徴である。水平分布域は、藻種間でやや差違が見られるものの、5種のそれらをあわせれば、東北から九州南部までの沿岸域に達する<sup>4,5)</sup>。著者らの解析により、糖質（セルロース、ヘミセルロース、アルギン酸、フコイダン、ラミナラン、マンニトール）、タンパク質、脂質、灰分、カロテノイド色素、フロロタンニン類の含量について藻種間で大きな差違は無いことが明らかになっている<sup>2)</sup>。これらの藻種の利用については、天然藻体を採取し、ヨウ素やカリウム、アルギン酸生産の原料や特定の地域（新潟県、三重県、徳島県、長崎県、大分県など）にて食用としての実績<sup>4,5)</sup>はあるものの極めて限定的であり、コンブやワカメ、ノリといった有用海藻類の市場規模とは比肩出来ないほど小規模である。したがって、アラメ属・カジメ属褐藻類を養殖し原料バイオマスとして用いたバイオリファイナリー技術を確立すれば、全国規模でのマリンバイオリファイナリーの展開が期待出来る。2003年度から熊本県水産研究センターと天草漁業協同組合・五和支所では、ワカメの養殖技術を活用して、フロロタンニン類のソースとしての

アラメ属褐藻類



アラメ



サガラメ

カジメ属褐藻類



クロメ



カジメ



ツルアラメ

図1. アラメ属・カジメ属褐藻類

アラメとクロメは、福岡県・糸島市、サガラメとカジメは、三重県・志摩市、ツルアラメは、山口県・下関市で採取した。サガラメは、三重県では「あらめ」と古くから呼ばれている。



図2. サガラメとカジメの海中林（海藻群落）

三重県志摩市麦崎にて撮影した。写真の群落の平均生産量は、20 kg(w.w)/m<sup>2</sup>に達する。



図3. 熊本県天草市五和町鬼池で行われているクロメの養殖収穫されたクロメは、フロロタンニン類の抽出のために用いられている。CREST研究「藻類完全利用のための生物工学技術の集約」では、海藻バイオリファイナーの原料バイオマスとして使用した。

利用を目的にカジメ属褐藻類に属するクロメの養殖事業を展開している (図3)。

現在、126,700 m<sup>2</sup>の区画で、年間約2.5トン (生鮮重量) のクロメ藻体の生産に成功している。これは、非食用の用途に特化して開始した日本初の海藻養殖であり、養殖された藻体は、フロロタンニンエキス、石鹸やシャンプー、化粧品の原材料として活用されている (現在は、食品としてのニーズもある)。著者らの解析で、養殖クロメとクロメ天然藻体 (天草産) 間で糖質をはじめとする代謝物の含量やフロロタンニン類の化合物組成に差は無いことを確認している<sup>2,6)</sup>。CREST研究「藻類完全利用のための生物工学技術の集約」<sup>2)</sup>では、この天草産養殖クロメを原料バイオマスに選定し、バイオエタノールが生産可能な遺伝子組換え酵母<sup>7-9)</sup>とバイオ燃料電池の開発<sup>10-12)</sup>にそれぞれ成功した。著者らは、2016年に「三重大学海藻バイオリファイナー研究センター」を設立し<sup>13)</sup>、アラメ属・カジメ属褐藻類の養殖用種系の作製に必要な配偶体の採取と保存、それらを用いた促成栽培技術の開発に取り組んでいる。

### 3. 海藻ポリフェノール「フロロタンニン類」と新しい生理機能

ポリフェノールとは、分子内にフェノール性水酸基を2個以上持つ化合物の総称とされている。陸上植物の生産するポリフェノール類は、フラバノール骨格を持つ化合物が重合した縮合型タンニン (condensed tannins)、没食子酸 (gallic acid) やエラグ酸などの芳香族化合物とグルコースなどの糖質がエステル結合した加水分解性タンニンやスチルベン誘導体などが挙げられる。ポリフェノール類は、その多彩な生理機能から“健康維持”を期待出来る天然物の代名詞といった扱ひの感があり、緑茶やカカオ、大豆、ベリー類、赤ワインをはじめポリフェノール類に富

む植物性素材を活用した食品が市場に溢れかえっていることは、著者らが指摘するまでもない。

海藻ポリフェノールのフロロタンニン類 (phlorotannins) は、褐藻類特有のポリフェノール類であり、フロログルシノール (1,3,5-trihydroxybenzene) が単に重合した構造をとっている<sup>14)</sup>。フロロタンニン類は、フロログルシノールの結合様式の違いから、fucols, phlorethols, fucophlorethols, fuhalols, isofuhalols, eckolsの単位構造が存在し<sup>14)</sup>、近年、これらにcarmalolsが加わっている<sup>15)</sup> (図4)。

その他、フロロタンニン類の特徴としてハロゲン化合物の存在も報告されている<sup>14)</sup>。フロロタンニン類を生産する褐藻類としては、北欧・北米の沿岸域に分布する *Ascophyllum nodosum* や *Fucus vesiculosus*、前述のアラメ属・カジメ属褐藻類がよく知られており、化合物の単離に関する知見も多い<sup>14)</sup>。アラメ属・カジメ属褐藻類に含まれるフロロタンニン類は、dibenzo-1, 4-dioxin構造を持つ eckolのオリゴマーが多く、著者らの研究グループでは、eckol, fucufuroeckol A, phlorofucufuroeckol A, dieckol, 8,8'-bieckol (図5) を中心に、生理機能探索に関する研究を進めている。その他、アラメ属・カジメ属褐藻類に含まれるフロロタンニン類は、表1にまとめた。フロロタンニン類は、アルコールや熱水を用いた抽出、有機溶媒による分配により藻体から比較的容易に得ることが出来る。また、逆相HPLCカラムを用いたオリゴマーの分離も可能である<sup>6,16)</sup>。

フロロタンニン類の生理機能については、当初、藻食性巻貝類や藻体表面へ付着する微生物・藻類、紫外線に対する防御効果など化学的生態学的見地から褐藻類の持つ防御物質として役割を論じられることが多かったが、2005年前後を境に新しい機能性ポリフェノールとしての知見が増えている。陸上植物のポリフェノール類と同様、酸化性や抗アレルギー性、抗炎症性、抗菌性、抗アルツハイマー病作用などの生理機能がこれまでに報告されている。ここでは、著者らの研究グループが明らかにした最新の生理機能としてフロロタンニン類の抗糖化性について紹介する。

生体内で還元糖は、タンパク質のリシン残基やアルギニン残基と非酵素的に反応しタンパク質の不可逆的な変性をもたらす<sup>17)</sup>。これは、タンパク質の糖化反応 (glycation) と呼ばれており、食品化学の分野では、メイラード反応またはアミノ・カルボニル反応の名称で知られる反応である<sup>17)</sup>。タンパク質の糖化反応は、methylglyoxal (MGO) や

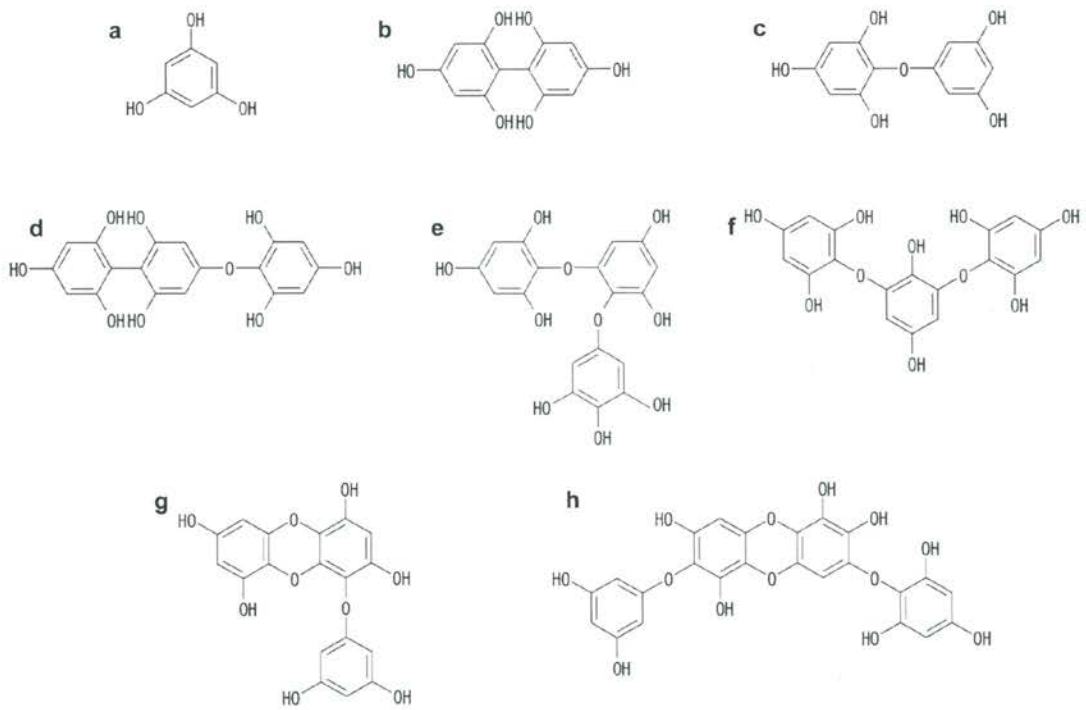


図4. フロロタンニン類の単位構造

a, phloroglucinol; b, fucol類 (difucol); c, phloretol類 (diphloretol); d, fucophloretol類 (fucophloretol A); e, fufalol類 (trifufalol B); f, isofufalol類 (trifufalol); g, eckol類 (eckol); h, carmalol類 (diphloretohydroxycarmalol).

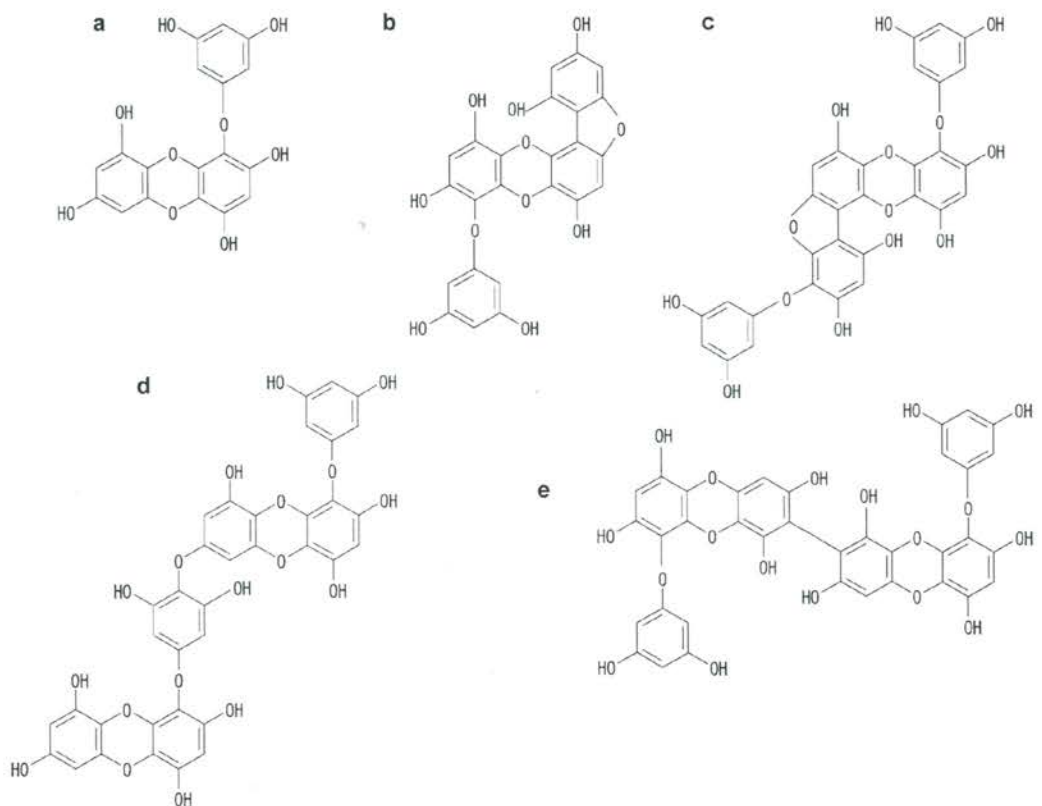


図5. アラメ属・カジメ属褐藻類から単離したフロロタンニン類の構造式  
a, eckol; b, fucofuroeckol A; c, phlorofucofuroeckol A; d, dieckol; e, 8,8'-bieckol.

表1. これまでに報告されたアラメ属・カジメ属褐藻類に含まれるフロロタンニン類

| 化合物                   | アラメ属<br>褐藻類 |                  | カジメ属<br>褐藻類 |             |                       | 化合物                                    | アラメ属<br>褐藻類 |                  | カジメ属<br>褐藻類 |             |                       |
|-----------------------|-------------|------------------|-------------|-------------|-----------------------|--|-------------|------------------|-------------|-------------|-----------------------|
|                       | アラ<br>メ     | サ<br>ガ<br>ラ<br>メ | カ<br>ジ<br>メ | ク<br>ロ<br>メ | ツ<br>ル<br>ア<br>ラ<br>メ |  | アラ<br>メ     | サ<br>ガ<br>ラ<br>メ | カ<br>ジ<br>メ | ク<br>ロ<br>メ | ツ<br>ル<br>ア<br>ラ<br>メ |
| Phloroglucinol        | +           | +                | +           | +           | +                     | 7,7'-Dihydroxy-9,9'-bieckol            |             |                  |             |             |                       |
| Eckols                |             |                  |             |             |                       |  | -           | +                | -           | -           | -                     |
| Eckol                 | +           | +                | +           | +           | +                     | 2,7''-Phloroglucinol-6,6'-bieckol      | -           | -                | +           | -           | -                     |
| Dioxinodehydroeckol   | +           | +                | +           | -           | +                     | Pyrogallol-phloroglucinol-6,6'-bieckol | -           | -                | +           | -           | -                     |
| 2-Phloroeckol         | -           | -                | -           | +           | +                     | 974-A                                  | -           | -                | +           | -           | -                     |
| 3-Phloroeckol         | -           | +                | -           | +           | -                     | (phloroglucinol octamer)               | -           | -                | -           | +           | -                     |
| 7-Phloroeckol         | +           | -                | +           | -           | +                     | 974-B                                  | -           | -                | -           | +           | -                     |
| Fucofuroeckol A       | +           | +                | -           | -           | -                     | (phloroglucinol octamer)               | +           | -                | -           | +           | -                     |
| Fucofuroeckol B       | -           | +                | -           | -           | -                     | Others                                 |             |                  |             |             |                       |
| Fucofuroeckol C       | -           | +                | -           | -           | -                     | Eckstolnol                             | -           | -                | +           | -           | +                     |
| 7-Hydroxyeckol        | -           | +                | -           | -           | -                     | Triphlorethol-A                        | +           | -                | +           | -           | +                     |
| Phlorofucofuroeckol A | +           | +                | +           | +           | +                     | Triphlorethol-B                        | -           | +                | -           | +           | +                     |
| Phlorofucofuroeckol B | -           | +                | -           | +           | +                     | Fucodiphloroethol G                    | -           | -                | +           | +           | -                     |
| Dieckol               | +           | +                | +           | +           | +                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 8,4'''-Dieckol        | -           | +                | -           | +           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 6,6'-Bieckol          | +           | +                | +           | -           | +                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 6,8'-Bieckol          | +           | +                | -           | -           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 7,7'-Bieckol          | -           | +                | -           | +           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 7,9'-Bieckol          | -           | +                | -           | -           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 8,8'-Bieckol          | +           | +                | -           | +           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 9,9'-Bieckol          | -           | +                | -           | +           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |
| 7,2'''-Bieckol        | -           | +                | -           | -           | -                     |  |             |                  |             |             |                       |

+ : 報告有り、- : 報告無し。

3-deoxyglucosoneなどの糖代謝中間体が形成された後、終末糖化産物 (AGEs: advanced glycation end products) の産生へと至る。生じたAGEsは、糖尿病性合併症やアテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病の発症と進行に鍵となる役割を果たすことが指摘されている<sup>18, 19)</sup>。これまでに、アミノグアニジン (aminoguanidine)<sup>20)</sup>、OPB-9195 (2-isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-ylacetanilide)、LR-90 (methylene bis [4, 4'-(2-chlorophenylureido phenoxyisobutyric acid)]), ALT-946 (N-(2-acetamidoethyl) hydrozinecarboximidamide hydrochloride) などの合成の糖化反応阻害剤が開発されているが<sup>21)</sup>、副作用の問題があり、いずれの製剤も実用化には至っていないことから、抗糖化性を示す天然由来の化合物の探索と活用が望まれている。著者らの研究グループは、アルブミン-MGOモデルとアルブミン-グリセルアルデヒド (GA: glyceraldehyde) モデルを用いてフロロタンニン類の抗糖化性を評価した<sup>22~25)</sup>。

$\alpha$ -ジカルボニル化合物のMGOは、その血中濃度が1型

糖尿病患者では約6倍、2型糖尿病患者では約3.6倍健常者より高いことが知られている<sup>26)</sup>。よってMGOを介したAGEs形成経路は、重篤な経路と考えることが出来る。アラメ属・カジメ属褐藻類からフロロタンニン抽出液 (混合物) を調製し、蛍光性AGEs形成阻害活性を測定した結果、ヒト血清アルブミン-MGOモデルでは0.45 mg/mLから0.53 mg/mL、ウシ血清アルブミン-MGOモデルでは0.43 mg/mLから0.53 mg/mLのIC<sub>50</sub>値 (蛍光性AGEsの形成を50%阻害する時のサンプル濃度) (mg/mL) を示した (表2)。

ポジティブコントロールとして用いたアミノグアニジンのIC<sub>50</sub>値が、ヒト血清アルブミン-MGOモデルで0.70 mg/mL、ウシ血清アルブミン-MGOモデルで0.90 mg/mLであったことから、フロロタンニン類は合成の糖化反応阻害剤を上回る活性を持つことが明らかになった。図5に示した化合物群を用いた試験では、benzobisbenzofuran構造を持つphlorofucofuroeckol Aとfucofuroeckol Aの蛍光性AGEs形成阻害活性が高く、特にphloroucofuroeckol A

表2. 蛍光性AGEs形成に対するアラメ属・カジメ属褐藻類から調製したフロロタンニン抽出液のIC<sub>50</sub>値

| 藻種    | 採取地 | ヒト血清                 |                              |
|-------|-----|----------------------|------------------------------|
|       |     | アルブミン-MGO<br>(mg/mL) | ウシ血清<br>アルブミン-MGO<br>(mg/mL) |
| アラメ   | 福岡県 | 0.45                 | 0.43                         |
| サガラメ  | 三重県 | 0.46                 | 0.53                         |
| カジメ   | 三重県 | 0.53                 | 0.51                         |
| クロメ   | 福岡県 | 0.45                 | 0.46                         |
| クロメ   | 熊本県 | 0.53                 | 0.50                         |
| 養殖クロメ | 熊本県 | 0.46                 | 0.46                         |
| ツルアラメ | 山口県 | 0.52                 | 0.47                         |

データは、3回測定の前平均値を示している。対照として用いた塩酸アミノグアニジンの示すIC<sub>50</sub>値は、ヒト血清アルブミン-MGOモデルで0.70 mg/mL、ウシ血清アルブミン-MGOモデルで0.90 mg/mLであった。

表3. 蛍光性AGEs形成に対するフロログルシノールと精製フロロタンニン類のIC<sub>50</sub>値

| Compounds             | ヒト血清                    |                                 |
|-----------------------|-------------------------|---------------------------------|
|                       | アルブミン-MGO<br>( $\mu$ M) | ウシ血清<br>アルブミン-MGO<br>( $\mu$ M) |
| Phloroglucinol        | $3.9 \times 10^3$       | $2.4 \times 10^3$               |
| Eckol                 | $1.3 \times 10^3$       | $1.6 \times 10^3$               |
| Fucofuroeckol A       | $5.5 \times 10^2$       | $7.4 \times 10^2$               |
| Phlorofucofuroeckol A | $4.8 \times 10^2$       | $4.1 \times 10^2$               |
| Dieckol               | $6.9 \times 10^2$       | $7.4 \times 10^2$               |
| 8,8'-Bieckol          | $6.3 \times 10^2$       | $6.9 \times 10^2$               |

データは、3回測定の前平均値を示している。対照として用いた塩酸アミノグアニジンの示すIC<sub>50</sub>値は、ヒト血清アルブミン-MGOモデルで $6.4 \times 10^3 \mu$ M、ウシ血清アルブミン-MGOモデルで $8.1 \times 10^3 \mu$ Mであった。

は、IC<sub>50</sub>値 ( $\mu$ M) の比較でアミノグアニジンに対してヒト血清アルブミン-MGOモデルで約13倍、ウシ血清アルブミン-MGOモデルで約20倍の活性を持つことが分かった(表3)。生体内で、MGOはAGEsの形成に加え活性酸素種の増加とスーパーオキシドジスムターゼの不活性化をもたらすことが指摘されている。したがって、MGOの捕捉は、糖化ストレスと酸化ストレスの双方を軽減する効果が期待出来る。MGOと*o*-phenylenediamineの反応によって生じる1-methylquinoxaline量を指標に、フロロタンニン抽出液1 mg/mLの濃度でそれぞれのMGO捕捉活性を測定した結果、120分間の反応で75.2% (サガラメ抽出液) から86.7% (ツルアラメ抽出液) の範囲の捕捉率を示した<sup>22, 23)</sup>。さらに、図5に示した化合物群では、eckolとその二量体であるdieckolと8,8'-bieckolが、アミノグアニジンを上回るMGO捕捉活性を持つことが分かった<sup>22, 23)</sup>。eckolをモデル化合物として、MGOとの反応液についてLC/MSを用いて解析した結果、eckolにMGO1分子が結合した付加体と2分子が結合した付加体が反応液中にそれぞれ検出された(図6)<sup>22, 23)</sup>。

$\alpha$ -ヒドロキシアルデヒドのGAは、生体内で解糖系、

表4. 蛍光性AGEs形成に対するアラメ属・カジメ属褐藻類から調製したフロロタンニン抽出液のIC<sub>50</sub>値

| 藻種    | 採取地 | ヒト血清                |                             |
|-------|-----|---------------------|-----------------------------|
|       |     | アルブミン-GA<br>(mg/mL) | ウシ血清<br>アルブミン-GA<br>(mg/mL) |
| アラメ   | 福岡県 | 0.48                | 0.52                        |
| サガラメ  | 三重県 | 0.51                | 0.61                        |
| カジメ   | 三重県 | 0.70                | 0.75                        |
| クロメ   | 福岡県 | 0.58                | 0.55                        |
| クロメ   | 熊本県 | 0.61                | 0.59                        |
| 養殖クロメ | 熊本県 | 0.52                | 0.58                        |
| ツルアラメ | 山口県 | 0.54                | 0.56                        |

データは、3回測定の前平均値を示している。対照として用いた塩酸アミノグアニジンの示すIC<sub>50</sub>値は、ヒト血清アルブミン-GAモデルで1.10 mg/mL、ウシ血清アルブミン-GAモデルで1.93 mg/mLであった。

表5. 蛍光性AGEs形成に対するフロログルシノールと精製フロロタンニン類のIC<sub>50</sub>値

| Compounds             | ヒト血清                   |                                |
|-----------------------|------------------------|--------------------------------|
|                       | アルブミン-GA<br>( $\mu$ M) | ウシ血清<br>アルブミン-GA<br>( $\mu$ M) |
| Phloroglucinol        | $3.8 \times 10^3$      | $3.8 \times 10^3$              |
| Eckol                 | $1.1 \times 10^3$      | $1.3 \times 10^3$              |
| Fucofuroeckol A       | $7.4 \times 10^2$      | $1.4 \times 10^3$              |
| Phlorofucofuroeckol A | $7.3 \times 10^2$      | $1.4 \times 10^3$              |
| Dieckol               | $5.5 \times 10^2$      | $8.7 \times 10^2$              |
| 8,8'-Bieckol          | $5.7 \times 10^2$      | $6.2 \times 10^2$              |

データは、3回測定の前平均値を示している。対照として用いた塩酸アミノグアニジンの示すIC<sub>50</sub>値は、ヒト血清アルブミン-GAモデルで $1.0 \times 10^4 \mu$ M、ウシ血清アルブミン-GAモデルで $1.7 \times 10^4 \mu$ Mであった。

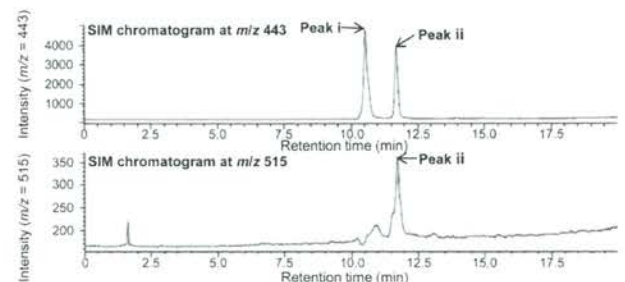


図6. LC-MSを用いたeckol-MGO付加体の検出  
質量分析装置の選択的イオンモニタリング(SIM)測定を用いて、eckol-MGO反応液を解析した。peak iは、eckolに1分子のMGOが結合した付加体、peak iiは、eckolに2分子のMGOが結合した付加体を示している。

ポリオール経路、フルクトース代謝経路から生じるとされる<sup>27)</sup>。よってGA由来のAGEsは、グルコースやMGO由来のAGEsと比較して生成速度が速いと考えられている<sup>19)</sup>。GA由来のAGEsは、その受容体(RAGE)を介して強力な細胞毒性や酸化ストレスの亢進に関与することも指摘されており<sup>19)</sup>、GA由来AGEs形成阻害活性やGA捕捉活性を示す化合物の探索研究が注目されている。著者らは、アルブミン-MGOモデルでの試験と同一のアプローチでアルブミン-GAモデルにおけるフロロタンニン類の抗糖化性

を検証した。アラメ属・カジメ属から調製したフロロタンニン抽出液のIC<sub>50</sub>値 (mg/mL) は、ヒト血清アルブミン-GAモデルで0.48 mg/mLから0.70 mg/mL、ウシ血清アルブミン-GAモデルで0.52 mg/mLから0.75 mg/mLの範囲にあり、最も効果的な活性を示したアラメ・フロロタンニン抽出液の場合、アミノグアニジンと比較して約2.3倍、約3.7倍の蛍光性AGEs形成阻害活性を持つことが分かった(表4)。

図5に示した化合物群を用いた試験では、ヒト血清アルブミン-GAモデルの場合、dieckol (IC<sub>50</sub>値:  $5.5 \times 10^2 \mu\text{M}$ ) が、ウシ血清アルブミン-GAモデルの場合、8,8'-bieckol (IC<sub>50</sub>値:  $6.2 \times 10^2 \mu\text{M}$ ) が最も高い値を示し、アミノグアニジンとの比較で約18倍、約27倍の蛍光性AGEs形成阻害活性を持つことが明らかになった(表5)。さらに、1,3-cyclohexanedioneを用いてGAの誘導体化反応を行い、フロロタンニン類のGA捕捉活性を測定した結果、120分間の反応で5 mg/mL濃度のフロロタンニン抽出液では62.3% (ツルアラメ抽出液) から75.2% (カジメ抽出液) の範囲の捕捉率を示した。精製フロロタンニン類のGA捕捉活性は、いずれの化合物もアミノグアニジンの示す捕捉率(86.2%)を下回る値であったが、フロログルシノール三量体以上の化合物(eckol, phlorofucofuroeckol A, phlorofucofuroeckol A, dieckol, 8,8'-bieckol) は、約70%以上の捕捉率を得られた<sup>24, 25)</sup>。

このように著者らの研究データから、フロロタンニン類は、合成の抗糖化剤を上回る抗糖化性を持っていることが分かる<sup>22-25)</sup>。現時点では、①MGOを介したAGEs形成経路では、benzobisbenzofuran構造を持つphlorofucofuroeckol Aとfucufuroeckol Aが効果的なAGEs形成阻害活性を持つ<sup>22, 23)</sup>、②GAを介したAGEs生成経路では、eckolの二量体であるdieckolと8,8'-bieckolが効果的なAGEs形成阻害活性を持つ<sup>24, 25)</sup>、③dieckolと8,8'-bieckolは、MGO捕捉活性も示す<sup>22, 23)</sup>、と結論づけることが出来る。著者らの研究

グループは、動物培養細胞(HeLa細胞と3T3L-1細胞)を用いたMTT試験とマウスへの単回経口投与試験からフロロタンニン類が細胞毒性<sup>24, 25)</sup>と生体毒性を示さないこと<sup>28)</sup>をそれぞれ確認している。化合物の構造、由来となる藻種は異なるが、フロロタンニン類の吸収と代謝に関するデータも近年、報告されている<sup>29)</sup>。海藻ポリフェノールのフロロタンニン類は、糖化反応の効果的な阻害が期待出来る薬理作用の高い天然物としての可能性を持っており、新しい機能性ポリフェノールとして今後も評価研究を続けていきたいと考えている。

#### 4. 海藻分解性細菌の分離とその応用

海藻バイオリファイナーを進めていくうえで重要になる過程が海藻体の粉碎、糖化といった前処理である。海藻体の物理的な破碎の後、酸処理などにより海藻の糖化液を作ることが一般的である。著者らは、このような処理の簡略化を目指し、海藻体を崩壊させるような細菌を利用することはできないかと考えてきた。海藻体を崩壊させる能力を持つ細菌の発見については歴史的に30年ほど遡り、最初に報告されたのは1984年に北海道のコンブの穴あき病と呼ばれる疾病から分離された海洋細菌である、H-4株であった<sup>30)</sup>。この疾病は1年後に収束したものの、その14年後、1998年にふたたび確認された。その時に再度、同一の細菌が分離され、*Pseudoalteromonas elyakovii*という名前の新種として2000年に記載された<sup>31)</sup>。本菌は、海藻構成多糖類を効率的に分解するための多数の酵素を有していることが分かり、海藻のプロトプラスト化の試みなどが行われた<sup>32)</sup>。その後、世界規模でこのような海藻の疾病から強力な海藻体を崩壊させる能力を有する菌が分離された。特に1998年に分離された*Saccharophagus degradans*は海藻体の崩壊性が極めて強く、多くの海藻構成多糖分解酵素

表6. これまでに報告されている海藻分解性細菌

| 菌株                                 | 分離源     | 多糖分解/利用性   | 報告者  |
|------------------------------------|---------|--|--|
| <i>Saccharophagus degradans</i>    | 病変コンブ藻体 | agar, alginate, cellulose, chitin, $\beta$ -glucan, laminarin, pectin, pullulan, starch, xylan | Ekborg et al, (1998) 2005<br>Sakatoku et al., 2011 |
| <i>Pseudoalteromonas elyakovii</i> | 病変コンブ藻体 | alginate, mannitol, laminarin  | Sawabe et al., (1984) 2000                         |
| <i>Formosa algae</i>               | コンブ藻体   | alginate, mannitol   | Ivanova et al., 2004                               |
| <i>Halomonas marina</i>            | コンブ藻体   | alginate, mannitol, laminarin, pectin  | Ivanova et al., 2002                               |

の発見につながった<sup>33)</sup>。表6に示す通り、これまでに4属ほどの細菌が記載されている<sup>34, 35)</sup>。

著者らは海藻を摂餌する無脊椎動物の消化管には、海藻を強力に分解する細菌が存在するのではないかと考え、海藻を好んで食べるアワビに着目し、精力的なスクリーニングを行ったところ、約900株の保存株中、1株のみ、海藻を崩壊（分解）する細菌の分離に成功した。本菌は図7に示す通り、形状は典型的な桿菌であったが、これまでの既知の細菌とは大きく生化学的性状や分子系統が異なることから新種として記載され、*Formosa haliotis*（フォルモサハリオティス）と命名された。これまでに海藻体を崩壊させる細菌の報告は海藻の病気が分離源であることが多く、海藻を食する動物から発見されたのは、はじめての報告となった<sup>36)</sup>。

著者らは*F. haliotis*の全ゲノム解析を行うことにより、

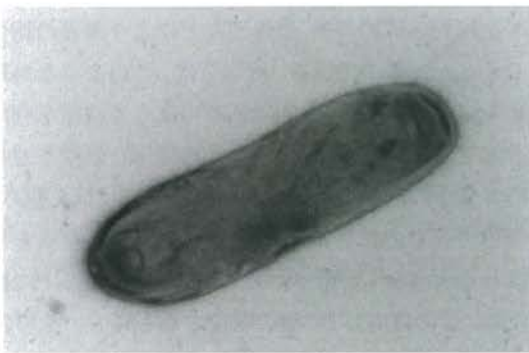


図7. *Formosa haliotis*の電子顕微鏡画像

本菌がどのようにして海藻体を崩壊させるのか、遺伝子レベルで解明を進めることにより、その一端が見えてきた。図8にゲノム解析結果の概要を示す。本菌はゲノムサイズが4Mbpを超え、一般的な海洋細菌に比べて高分子分解に関わる遺伝子を多く保有していた。また、海藻構成多糖類を分解するための多くの炭水素分解遺伝子を有し、その数は353に及んだ。海藻構成多糖類のうち多くの割合を占めるアルギン酸の分解に関しては、17の遺伝子からなるクラスターを形成しており、Alginate lyase (family PL-7), Oligoalginate lyase classified to the alginate lyase (family PL-17), 4-deoxy-L-erythro-5-hexoseulose uronic acid (DEH) reductase, KdgF, 2-keto-3-deoxy-D-gluconate (KDG) kinase, 2-dehydro-3-deoxy-phosphogluconate (KDPG) aldolase遺伝子などが確認できた。最終的に生成されたKDGをピルビン酸に変換し、中央代謝系を駆動していることが分かった<sup>37)</sup>。海洋中において少ない資源を徹底的に吸収、分解するために多様な遺伝子を保有し、代謝を行う巧みな生存戦略が見えてきた。

コンブなどの褐藻類を入れた基礎培地に本菌(*F. haliotis*)を接種すると、5日程度でドロドロに溶けたいわば海藻の糖化液を作成できる。この糖化液と酵母を組み合わせることにより、バイオエタノールを作成することができる。また、乳酸菌と組み合わせることにより、バイオプラスチックを生産するなど、海藻バイオリファイナリーのプラットフォームとして十分に機能する万能細菌である。図9に示す通り、従来の化学処理法による海藻糖化に変わる新しい

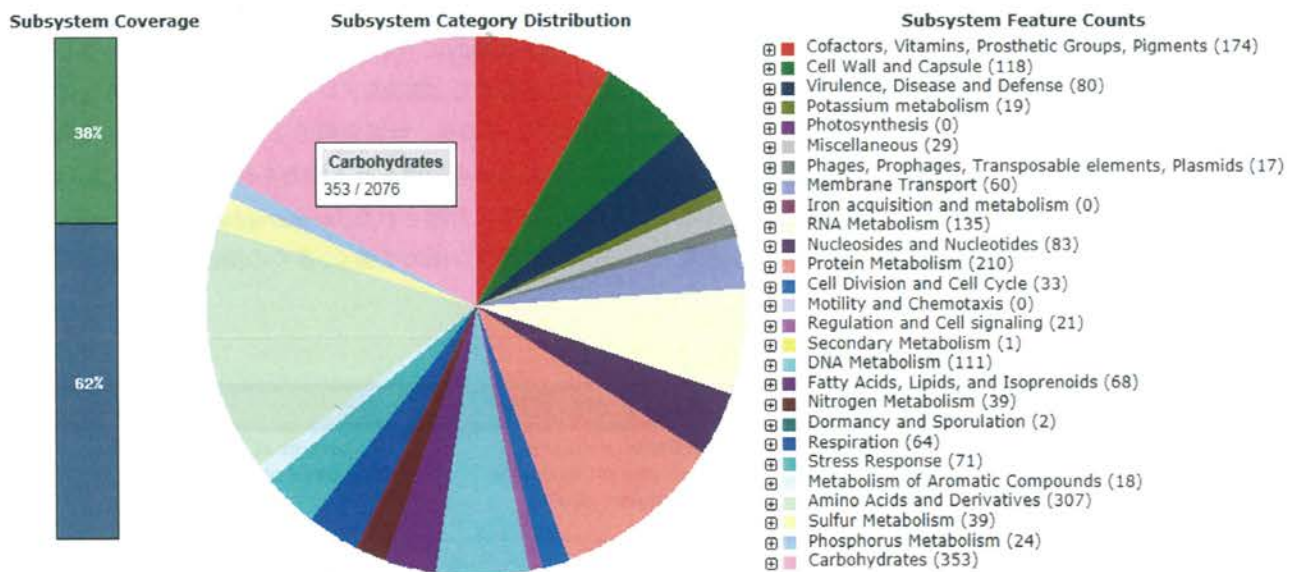


図8. *Formosa haliotis*の遺伝子解析結果

炭水素代謝関連遺伝子数はアノテートされた2076遺伝子中353遺伝子に及んだ。さらにアミノ酸代謝関連遺伝子数も307におよび炭素源のみならず窒素源の分解にも寄与していることが分かる。



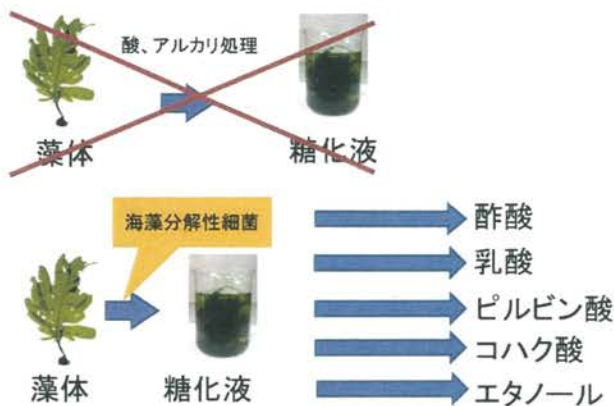


図9.酸、アルカリに頼らない海藻分解性細菌を用いた糖化と発酵

糖化プロセスの構築という面においても非常に優れた細菌であり、その有効活用が望まれる。著者らは、前述したように人工的に改変した酵母を用いて海藻の主要構成多糖であるアルギン酸を基質とした培地からバイオエタノールを生産することに成功している<sup>8)</sup>。また、他の研究グループの報告を見る限り、酢酸<sup>38)</sup>やピルビン酸<sup>39)</sup>を生産させることにも成功している。いずれにしても糖化处理には海藻体を崩壊させる能力を有する細菌を用いることで、化成品の基幹物質を作るまでにあと一步のところまで来ていると言えるであろう。

一方で、本菌 (*F. haliotis*) は、海藻の主要構成多糖であるアルギン酸を基質とした最小培地で貧酸素培養を行うと、コハク酸を生産することが分かってきた。代謝経路の予測によると、アルギン酸を菌体外でオリゴアルギン酸にまで分解したのち、菌体内に取り込み、エキソ型のリアーゼにより単糖にまで分解する。この単糖はDEHと呼ばれるレダクターゼによりKDGになり、リン酸化されKDPGとなる。最終的にはピルビン酸として菌体内で代謝されているものと考えられる。さらにゲノム解析から乳酸や酢酸の代謝経路が少ないか、もしくは発現されていないことが分かっており、高純度のコハク酸が得られる可能性を有している。コハク酸はバイオリファイナリーでの基幹物質としてあげられる高付加価値を有する物質であり、今後、海藻からコハク酸を直接製造するなどの新技術ができるものと期待している。

## 5. アルギン酸からの希少糖生産

希少糖とは、国際希少糖学会によって「自然界にその存在量が少ない単糖とその誘導体」として定義されている<sup>40)</sup>。

そして、それらの希少糖のほとんどが陸上植物や陸上に存在する微生物によって生産される単糖である。著者らは、海藻分解性細菌が生産するアルギン酸単糖であるDEHに注目し、酵素を使って効率良く生産することで海洋由来の希少糖を得ることに成功した。バイオマスに大型海藻を用いてバイオリファイナリーを達成するには、陸上植物には含まれないアルギン酸をいかに効率良くDEHまで分解し、発酵微生物がそれを代謝してアルコールや化成品原料となる化合物へ変換する必要がある。アルギン酸を分解するには、アルギン酸リアーゼによる酵素分解が最も有効である。本章では主にアルギン酸リアーゼを用いたDEHの生産について述べる。

基質であるアルギン酸は、褐藻類や一部の紅藻に含まれる海洋植物由来の多糖であり、それらの乾燥重量の約30%を占める。アルギン酸は水に不溶性であるが、ナトリウム塩として抽出することでアルギン酸ナトリウムとなり水に可溶化する。アルギン酸の構造は、 $\beta$ -ピラノース型のD-マンヌロン酸と $\alpha$ -ピラノース型のL-グルロン酸が $\beta$ -1,4結合したポリウロン酸である。D-マンヌロン酸 (M) とL-グルロン酸 (G) の混合比率は起源や藻体部分によって異なるが、いずれも、Mブロック、Gブロック、混合ブロックから構成されている(図10A)<sup>41)</sup>。アルギン酸からアルギン酸オリゴ糖を得るには、酸による加水分解か酵素であるアルギン酸リアーゼを使った脱離反応により得ることができ、前者は飽和オリゴ糖を得ることができ、後者は脱離反応により二重結合を生成するため不飽和オリゴ糖となる。

「4. 海藻分解性細菌の分離とその応用」でも述べたように海藻分解性細菌が単離され、ゲノム解析によってその代謝経路は次第に明らかになりつつある。それらはいくつかのエンド型、エキソ型のアルギン酸リアーゼを発現することでアルギン酸を細胞内である程度の重合度まで切断し、最終的には不飽和ウロン酸まで分解される(図10B)<sup>42, 43)</sup>。この不飽和ウロン酸は、これまで非酵素的にピラノース環の二重結合が開裂することで、直鎖状の単糖であるDEHになると考えられてきたが、近年、Hobbsらによって、PL-17に属するエキソ型のアルギン酸リアーゼではKdgFという小さなタンパク質がこの開環反応をサポートすることが報告されている<sup>44)</sup>。その後、DEHはDEH還元酵素によりKDGに還元され、Entner-Doudoroff経路によってピルビン酸へ変換される(図10C)。

著者らのグループは、褐藻類を腐敗させ、その中から微生物のスクリーニングを行った結果、アルギン酸の分解活

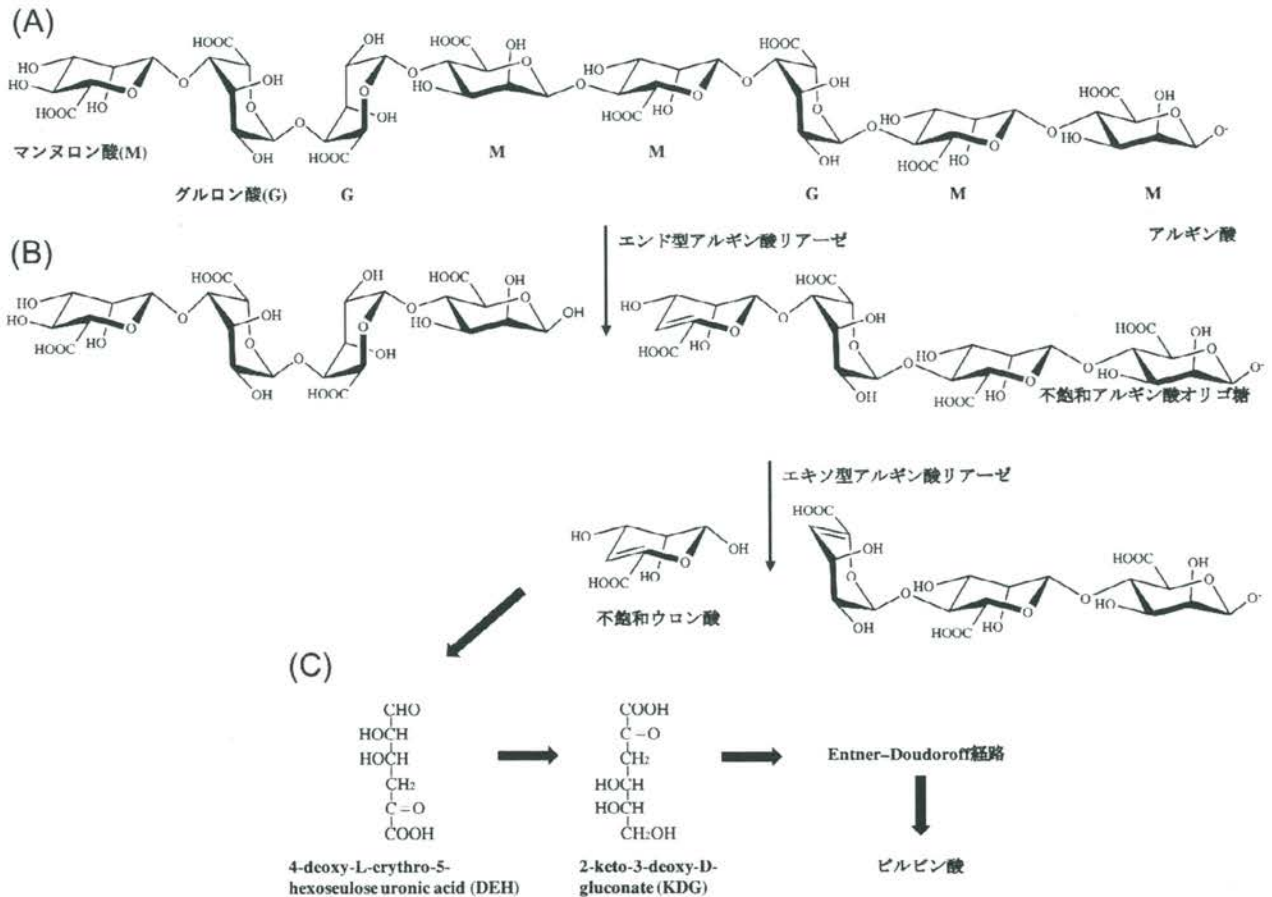


図10. アルギン酸資化性微生物のアルギン酸代謝

性が高く、アルギン酸からDEHを生成する *Falsirhodobacter* sp. alg1の単離に成功した。全ゲノム解析の結果、アルギン酸リアーゼに関する遺伝子は、エンド型の *alyFRA* 遺伝子とエキソ型の *alyFRB* 遺伝子の2種しか保存されていなかった<sup>15, 16)</sup>。AlyFRAは分子量が52.4 kDaでPL-7に属し、C末端側に触媒ドメインを有している。AlyFRBは分子量が89.1 kDaでPL-15に属し、機能未知の領域が多い酵素である。これらの組換え酵素を作製し、それぞれの酵素の切断パターンを調べたところ、AlyFRAでは重合度の異なるアルギン酸オリゴ糖を生成し、AlyFRBではDEHのみ生成することが分かった。多くのエンド型アルギン酸リアーゼはMもしくはGを認識することでどちらかを優先的に切断するが、AlyFRAは、MとGの両方を認識し切断することが分かった。また、AlyFRBのみを1% (w/v) のアルギン酸ナトリウム溶液と反応させると30%程度しかDEHに変換できないが、AlyFRAとAlyFRBの酵素量を調整することで84%以上の収率でDEHを生産することに成功している<sup>17)</sup>。このような高い収率でDEHが

得られた理由として、これまで報告されているアルギン酸資化性微生物は複数のアルギン酸リアーゼを保持しているが、*Falsirhodobacter* sp. alg1はエンド型とエキソ型のアルギン酸リアーゼがそれぞれ一つずつしかない。2種のアルギン酸リアーゼで多様なM/G比のアルギン酸に対応する必要があるため、この2種を用いることで効率よくDEHを生成することができたと考えられる。三重大学では、DEHの試料提供契約も行っているので、興味のある方は三重大学知的財産統括室<sup>18)</sup>に問い合わせいただきたい。

アルギン酸を用いたバイオリファイナリーに関しては、近年、米国カリフォルニア州のベンチャー企業であるBio Architecture Labは合成生物学的な手法を用いてアルギン酸代謝関連酵素を大腸菌に組み込んだ菌を育種し、アルギン酸から直接エタノールを生産することに成功した<sup>19)</sup>。CREST研究でも酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の細胞表面にアルギン酸リアーゼを提示し、DEHのトランスポーターとDEH以降の代謝経路を導入することでアルギン酸資化性酵母を構築した。さらに細胞内のレドックスバラン

スを調整するためにマンニトール資化能を付与することでアルギン酸から1種類の細胞で直接エタノールを発酵生産することに成功した<sup>8)</sup>。この手法は、アルギン酸だけでなく、褐藻類に含まれるマンニトールも利用できるため合理的である。また、DEHからKDGに変換することができればEntner-Doudoroff経路を持つ微生物はそれを利用することができるので大がかりな代謝改変の必要がなくなる。著者らは、*F. haliotis*からDEH還元酵素遺伝子を見つけ、その組換え体を用いることでKDGの生産にも成功している<sup>37,50)</sup>。

現在、DEHとKDGの生理機能を調査しており、興味深いことにアンチエイジングに有効な知見を得ている。これらはバイオリファイナリーのための原料だけでなく、機能的食品、化粧品、医薬品の原料としての利用も期待できる。将来、DEHやKDGの大量生産が可能になれば石油資源への依存度を下げると共に、水産業における新産業創成や二酸化炭素の削減、さらに海洋保全にも貢献できるだろう。

## 6. おわりに

著者らは、CREST研究を通じて獲得した技術と研究成果を継承し、さらにそれらを実証化試験のフェーズへと移行させるために、2016年9月に三重大学海藻バイオリファイナリー研究センター<sup>13)</sup>を設立した。本稿で紹介した海藻ポリフェノール類のプロロタンニン類、アルギン酸から得られる新しい希少糖のDEHとKDG、*F. haliotis*をはじめとする海藻分解性細菌類を食品化学の分野で活用することを目指している。現在、それらの産業利用に関するパートナー企業を獲得するためにバイオ系展示会への出展などの活動を積極的に展開している。

## 引用文献

- 国立研究開発法人科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業チーム型研究CREST/個人型研究さきがけ、「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」, <http://www.jst.go.jp/presto/bioenergy/>
- 藻類完全利用のための生物工学技術の集約, <http://www.jst.go.jp/presto/bioenergy/scholar/crest2.html#t01>
- T. Shibata, S. Kawaguchi, Y. Hama, M. Inagaki, K. Yamaguchi and T. Nakamura, *J. Appl. Phycol.*, **16**, 291-296(2004).
- 寺脇利信, 新井章吾, "有用海藻史", 大野正夫編著, 内田老鶴圃, 2004, pp.133-158.
- 倉島彰, "藻類ハンドブック", 渡邊信監修, NTS, 2012, pp.598-601.
- T. Shibata, K. Nagayama, S. Sugiura, S. Makino, M. Ueda and Y. Tamaru, *Am. J. Plant Sci.*, **6**, 2510-2521(2015).
- T. Takagi, T. Yokoi, T. Shibata, H. Morisaka, K. Kuroda and M. Ueda, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **100**, 1723-1732(2016).
- T. Takagi, Y. Sasaki, K. Motone, T. Shibata, R. Tanaka, H. Miyake, T. Mori, K. Kuroda and M. Ueda, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **101**, 6627-6636(2017).
- Y. Sasaki, T. Takagi, K. Motone, T. Shibata, K. Kuroda and M. Ueda, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **82**, 1459-1462(2018).
- Le Q. Hoa, H. Yoshikawa, M. Saito, M. Ueda, T. Shibata and E. Tamiya, *ChemCatChem*, **6**, 135-141(2014).
- Vu T. Huong, H. Yoshikawa, Le Q. Hoa, H. Toake, T. Shibata and E. Tamiya, *J. Solid. State Electr.*, **20**, 1481-1488(2016).
- J. Mazumder, H. Yoshikawa, H. Miyake, T. Shibata and E. Tamiya, *RSC Adv.*, **7**, 35613-35618(2017).
- 三重大学海藻バイオリファイナリー研究センター, <http://www.mie-u.ac.jp/research/intro/msbr-center.html>
- M.A. Ragan and K.W. Glombitza, *Prog. Phycol. Res.*, **4**, 1-241(1986).
- M.J. Ahn, K.D. Yoon, C.Y. Kim, J.H. Kim, C.G. Shin and J. Kim, *Phytother. Res.*, **20**, 711-713(2006).
- T. Shibata, K. Ishimaru, S. Kawaguchi, H. Yoshikawa and Y. Hama, *J. Appl. Phycol.*, **20**, 705-711(2008).
- R. Singh, A. Barden, T. Mori and L. Belin, *Diabetologia*, **44**, 129-146(2001).
- H. Vlassara and M.R. Palace, *J. Intern. Med.*, **251**, 87-101(2002).
- 竹内正義, 日薬理誌, **139**, 193-197(2012).
- M. Brownlee, H. Vlassara, A. Kooney, P. Ulrich and A. Cerami, *Science*, **232**, 1629-1632(1986).
- I. Sadowska-Bartosz and G. Bartosz, *Mech. Ageing Dev.*, **160**, 1-18(2016).
- 谷口凌佑, 杉浦真悟, 田中礼士, 三宅英雄, モリテツシ, 植田充美, 柴田敏行, 日本食品化学学会第23回総会・学術大会講演要旨集, 2017, p.69.
- S. Sugiura, Y. Minami, R. Taniguchi, R. Tanaka, H. Miyake, T. Mori, M. Ueda and T. Shibata, *Nat. Prod. Commun.*, **12**, 1793-1796(2017).
- 谷口凌佑, 杉浦真悟, 西岡慶彦, 柴田敏行, 日本食品化学学会第24回総会・学術大会講演要旨集, 2018, p.78
- S. Sugiura, R. Taniguchi, Y. Nishioka, R. Iwase, R. Tanaka, H. Miyake, T. Mori, M. Ueda and T. Shibata, *Nat. Prod. Commun.*, **13**, 1007-1010(2018).
- A.C. McLellan, P.J. Thornalley, J. Benn and P.H. Sonksen, *Clin. Sci.*, **87**, 21-29(1994).
- M. Takeuchi and S. Yamagishi, *Med. Hypotheses*, **63**, 453-455(2004).
- K. Nagayama, Y. Iwamura, T. Shibata, I. Hirayama and T. Nakamura, *J. Antimicrob. Chemother.*, **50**, 889-893(2002).
- G. Corona G, Y. Ji, P. Anegboonlap, S. Hotchkiss, C. Gill, P. Yaqoob, JPE. Spencer and I. Rowland, *Br. J. Nutr.*, **115**, 1240-1253(2016).
- T. Sawabe, Y. Ezura and T. Kimura, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 141-145(1992).
- T. Sawabe, R. Tanaka, M.M. Iqbal, K. Tajima, E.P. Ivanova and R. Christen, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **50**, 265-271(2000).
- 澤辺智雄, 田中礼士, 生地暢, 田島研一, 絵面良男, 日本水産学

- 会誌, 66, 249-254(2000).
- 33) N.A. Ekborg, J.M. Gonzalez, M.B. Howard, L.E. Taylor, S.W. Hutcheson and R.M. Weiner, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **55**, 1545-1549(2005).
- 34) E.P. Ivanova, I.Y. Bakunina, T. Sawabe, K. Hayashi, Y.V. Alexeeva, N.V. Zhukova, D.V. Nicolau, T.N. Zvaygintseva and V.V. Mikhailov, *Microb. Ecol.*, **43**, 242-249(2002).
- 35) E.P. Ivanova, Y.V. Alexeeva, S. Flavier, J.P. Wright, N.V. Zhukova, N.M. Gorshkova, V.V. Mikhailov, D.V. Nicolau and R. Christen, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **54**, 705-711(2004).
- 36) R. Tanaka, I. Cleenwerck, Y. Mizutani, S. Iehata, T. Shibata, H. Miyake, T. Mori, Y. Tamaru, M. Ueda, P. Bossier and P. Vandamme, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **65**, 4388-4393 (2015).
- 37) R. Tanaka, Y. Mizutani, T. Shibata, H. Miyake, S. Iehata, T. Mori, K. Kuroda and M. Ueda, *Genome Announc.*, **4**, e01312-16 (2016).
- 38) T. Sawabe, N. Setoguchi, S. Inoue, R. Tanaka, M. Ootsubo, M. Yoshimizu and Y. Ezura, *Aquaculture*, **219**, 671-679(2003).
- 39) S. Kawai, K. Ohashi, S. Yoshida, M. Fujii, S. Mikami, N. Sato and K. Murata, *J. Biosci. Bioeng.*, **117**, 269-274(2014).
- 40) 香川大学 国際希少糖研究教育機構, <http://www.kagawa-u.ac.jp/IIRSRE/>
- 41) T.A. Davis, B. Volesky and A. Mucci, *Water Res.*, **37**, 4311-4330(2003).
- 42) J. Preiss and G. Ashwell, *J. Biol. Chem.*, **237**, 309-316(1962).
- 43) J. Preiss and G. Ashwell, *J. Biol. Chem.*, **237**, 317-321(1962).
- 44) J.K. Hobbs, S.M. Lee, M. Robb, F. Hof, C. Barr, K.T. Abe, J.H. Hehemann, R. McLean, D.W. Abbott and A.B. Boraston, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 6188-6193(2016).
- 45) T. Mori, M. Takahashi, R. Tanaka, T. Shibata, K. Kuroda, M. Ueda and H. Takeyama, *Genome Announc.*, **2**, e00826-14 (2014).
- 46) T. Mori, M. Takahashi, R. Tanaka, H. Miyake, T. Shibata, S. Chow, K. Kuroda, M. Ueda and H. Takeyama, *PLoS one*, **11**, e0155537(2016).
- 47) アルギン酸リアーゼ及び当該酵素を用いる不飽和ウロン酸単糖の製造方法, PCT/JP2017/013871(2017).
- 48) 三重大学知的財産統括室, <http://www.crc.mie-u.ac.jp/chizai/>
- 49) A.J. Wargacki E. Leonard, M.N. Win, D.D. Regitsky, C.N.S. Santos, P.B. Kim, S.R. Cooper, R.M. Raisner, A. Herman, A.B. Sivitz, A. Lakshmanaswamy, Y. Kashiyama, D. Baker and Y. Yoshikuni, *Science*, **335**, 308-313(2012).
- 50) 不飽和ウロン酸還元酵素とアルギン酸誘導体の製造方法, 特願 2018-034178(2018).

## PROFILE

## 柴田 敏行

三重大学大学院生物資源学研究所  
三重大学海藻バイオリアファイナリー研究センター  
准教授  
博士(農学)



2003年九州大学大学院生物資源環境科学府生物機能科学専攻博士後期課程修了、九州大学大学院農学研究院学術特定研究員、マルキンバイオ株式会社、佐賀大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー研究員、福岡工業大学工学部生命環境科学科専任講師を経て、2007年三重大学大学院生物資源学研究所専任講師、2014年より現職。専門は食品化学、分析化学。

## 田中 礼士

三重大学大学院生物資源学研究所  
三重大学海藻バイオリアファイナリー研究センター  
准教授  
博士(水産科学)



2003年北海道大学大学院水産科学研究科博士後期課程修了、日本学術振興会特別研究員(京都大学大学院農学研究所)、(財)地球環境産業技術研究機構研究員を経て、2006年三重大学大学院生物資源学研究所助教、2007年より現職。専門は海洋微生物学。

## 三宅 英雄

三重大学大学院生物資源学研究所  
三重大学海藻バイオリアファイナリー研究センター  
准教授  
博士(農学)



2002年大阪府立大学大学院農学生命科学研究科博士後期課程修了、大阪大学蛋白質研究所情報科学研究系産学官連携研究員を経て、2003年三重大学大学院生物資源学研究所助手、2018年より現職。専門は構造生物学、応用微生物学。