

Title	Bioprocess Study on Chemical Production in Culture of Plant Hairy Roots
Author(s)	紀ノ岡, 正博
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3110157
DOI	10.11501/3110157
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	紀の岡 正博
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 1 2 2 2 3 号
学位授与年月日	平成 8 年 1 月 3 0 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Bioprocess Study on Chemical Production in Culture of Plant Hairy Roots (植物毛状根培養による有用物質の生産プロセスに関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 東稔 節治 (副査) 教授 駒澤 勲 教授 平田 雄志 教授 上山 惟一 助教授 田谷 正仁

論文内容の要旨

植物組織培養技術の進歩に伴い、植物細胞固有の有用物質を生産する試みがなされている。工業生産に至る過程は、高生産性細胞の誘導、培養条件の検討、培養特性の速度論的解析、培養操作の構築、リアクターの開発、およびこれらのプロセスを統合したシステムの最適化から構成される。本研究では、従来用いられてきたカルス細胞に比べ、遺伝的安定性、繁殖性等に優れている植物毛状根細胞を用い、有用物質の生産システムを構築することを目的として行った。まず、基礎的研究においては、5種の植物毛状根を用い、第1章で毛状根の有用物質生産素材としての有効性について検討し、親植物に勝ることを示した。第2章では、炭素源、窒素源およびリン源を中心に、培地組成が毛状根に及ぼす影響を検討し、培地成分の最適化を行った。特に、レッドビート毛状根の培養においては、細胞内のリンが増殖、および赤色色素の生産特性に多大な影響を及ぼすことを示し、培地組成の改善で、色素生産性を4.8倍向上させることができた。第3章では、毛状根固有の増殖形態である生長点の伸長、および分枝を考慮した速度モデルを構築し、増殖および色素生産特性を表現した。応用的研究においては、レッドビート毛状根の培養による色素生産システムを構築するため、第4章では、培養中にリアクター内を酸素飢餓状態にすると、色素漏出が生ずることを見出し、培養操作として、細胞増殖および色素漏出を伴う反復培養を実験的および速度論的解析を行うことで、色素生産性の向上を図った。第5章では、バイオリアクターを開発するため、毛状根表面を流れる培地流速が毛状根の増殖に影響を及ぼすことを示し、培地流速を変化させることのできるラジアルフロー型リアクターを試作し、リアクター特性の解析を行った。さらに、これまでの得られた結果を統合した色素生産システムにおいて、増殖および色素漏出の周期操作を伴う反復培養シミュレーションを行い、周期操作の最適化を行った。

論文審査の結果の要旨

植物属は地球上で最も永く人類と共存してきた生物であり、最近植物資源の枯渇から植物細胞の培養によって植物の

育種が行われ、色素などの代謝物の生産が為されている。植物細胞の培養において、成長の速い毛状根を用いる方法が行われてきたが、この方法は、毛状根細胞が遺伝的に安定である反面、代謝産物を細胞内に蓄積するため、連続的な代謝産物の回収が困難であったり、分枝した形態を示すため、反応器のスケールアップに際して、酸素移動速度を大きくするのに支障があった。本論文では、土壌細菌アグロバクテリウム・リゾゲネスを植物細胞の核に感染させ、毛状根を用いる代謝物生産方法を見出し、装置工学的に酸素飢餓処理を培養中に行うことで、外部への代謝産物の取り出しを容易とした。著者は、この方法に従って、大量に培養できる反応器形式を開発し、連続的にレッドビート毛状根より色素を生産する方法を求める画期的な研究を行ったものであり、一連の研究成果を本論文にまとめている。

本論文は、五章からなり、序論では、代謝産物として培養した毛状根より色素を生産する方法を中心にして、本研究の目標と意義を明らかにしている。基礎的研究として、第一章では、植物細胞の材料として毛状根の誘導に成功する例を示した。第二章については、炭素源、窒素源およびリン源を中心に、培地組成が毛状根に及ぼす効果を明らかにすると共に、培地組成を最適に改善して赤色色素ベタニンの生産量を数倍以上向上させることを示した。第三章では、毛状根特有の増殖形態である生長点の伸長および分枝を考慮した速度式を構築し、増殖および色素生産過程を表示した。応用的研究として、第四章では、培養中に反応器内を酸素飢餓状態にすると、細胞内に蓄えられていた色素が漏出する現象を見出し、色素漏出を繰り返す培養を実験的および理論的に行った。第五章では、毛状根の表面を流れる培地流速が毛状根の増殖に影響することを示し、溶存酸素濃度を均一にする半径方向流れ反応器を試作した。これらの特性にもとづいて、色素生産システムを構築し、増殖および色素漏出の周期操作を伴う反復培養によって、色素生産の最適化を明らかにしている。

以上の研究成果は、毛状根細胞の培養およびこれからの色素を生産する方法を解明すると共に、その最適周期操作による色素生産システムの構築に先駆的な貢献をしたところが大きく、論文博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認められる。