

私立大学研究ブランディング事業 令和3年度の進捗状況					
学校法人番号	361002	学校法人名	村崎学園		
大学名	徳島文理大学				
事業名	藻類成長因子を用いた海藻栽培技術イノベーション				
申請タイプ	タイプA	支援期間	3年	収容定員	5760人
参画組織	薬学部・香川薬学部・理工学部・総合政策学部・人間生活学部・生薬研究所				
事業概要	徳島・香川の両県は、古くからアオサノリやスジ青ノリなどの海藻養殖が盛んな地域である。本事業では、本学が独自に開発した「緑藻類成長因子サルーンシンを用いた革新的海藻種苗生産技術」を核とする安定栽培技術を確立し、海藻養殖産業の復興と活性化を目指す。大学発ブランド海藻の生産・通年陸上養殖システムの開発・伝統的な沿岸網養殖への応用・新たな藻類成長因子の探索とその活用等を通じて、地域水産業の発展に貢献する。				
①事業目的	本事業の目的は、徳島文理大学が所在する徳島県や香川県の主幹産業である海藻養殖業から抽出された課題に対して、本学の基礎研究から集約された知見、技術、ノウハウを結びつけ、薬学・環境科学・生物(理工)学・栄養学・総合政策科学を専門とする学部学科が協働することで具体的な解決策を提案すると共に、地域を支える人材の育成へと繋がる活動として発展させることである。				
②令和3年度の実施目標及び実施計画	<p>■研究計画</p> <p>&lt;研究1&gt; 牟岐町栽培センターでのアオサノリ養殖の実証 (薬学部・生薬研究所)  <b>目標</b>：牟岐町アワビ種苗生産施設の汲み上げ海水を使って、アオサノリが陸上養殖できることを実証する。  <b>計画</b>：大学発ベンチャーの設立に向けて、牟岐町が管理するアワビ種苗生産施設を候補地として、これまで徳島県と牟岐町と協議を重ねてきた。今年度、これまで本研究の協力機関である徳島大学、徳島県に加え牟岐町も参画することになり、改めて四者共同研究協定(本学、徳島大学、徳島県、牟岐町)を締結した。これにより、今年度(令和3年4月下旬)から、牟岐町種苗生産施設に、順次、養殖槽を設置し、本格的に施設の汲み上げ海水を利用して養殖試験を実施できるようになった。また、栄養塩の供給のため、7～8月には現地に地下海水を掘ることで養殖条件を最適化し、通年的に良質なアオサノリを養殖することも検討する。</p> <p>&lt;研究2&gt; アオサノリ高温耐性株の選定とその培養試験 (薬学部・生薬研究所・人間生活学部)  <b>目標</b>：高温耐性株アオサノリの選定と既に選定済みの高温耐性株の養殖試験を実施し、適正温度や成長率等の実用性を検討する。  <b>計画</b>：藻類成長因子サルーンシンを用いたアオサノリ種苗生産技術を利用して、現在、西日本各地(三重、徳島、高知、鹿児島、沖縄)に自生しているアオサノリ株を既に培養保存している。これらの培養株の中から、特に平均海水温の高い地域(鹿児島、沖縄)の種株を25度以上の条件で選抜育種することで高温耐性株を選定する。本研究は昨年度から継続しており、既に26度以上の水温条件でも高い成長率を示す2種の株を選定した。これらの高温耐性株については、室内培養において28度の高水温(自然界では真夏の海水温に相当)でも成長が確認できている。これらの株を使用して、今年度は陸上養殖を実施すると共に、養殖条件の多様性を踏まえて更に良質な高温耐性株を探索する。</p> <p>&lt;研究3&gt; 藻類成長促進因子サルーンシンのメカニズム解明 (薬学部・香川薬学部・生薬研究所)  <b>目標</b>：葉状体形成過程で発現するタンパクやサルーンシン結合タンパク(受容体)を特定する。  <b>計画</b>：サルーンシンを添加することで、単細胞状態のアオサノリが葉状体へと分化する。この現象を解明するため、分子ツールとしてサルーンシン蛍光標識体、サルーンシン担持型磁気ビーズ、昨年度においてはビオチン担持型サルーンシンの合成に成功した。設計したこれらの機能性分子を利用して、本年度は本格的にサルーンシン結合タンパクの単離を試みる。</p> <p>&lt;研究4&gt; アサクサノリの成熟誘導物質の探索とその活性評価 (薬学部・生薬研究所)  <b>目標</b>：アサクサノリの成熟誘導に最適な構造を特定する。  <b>計画</b>：これまでのブランディング事業において薬学部の化合物及び天然物抽出ライブラリーが構築されている。本学の化合物ライブラリーの中から、既にその候補となる化合物(群)が選定されているので、それらの候補化合物の効果について再現性を含めて再評価する。</p>				

**<研究5> 海藻陸上栽培技術の革新性と地域貢献活動のブランディング戦略**

**目標・計画:** 海藻陸上栽培技術イノベーションによる地域の養殖水産業の復興・活性化の進捗状況について、ホームページ、動画、パンフレットなど様々なコンテンツを制作して地域住民への周知を図り、徳島文理大学の研究活動・科学力の認知度を高める。事業成果の評価を学内委員で行い、ブランディング戦略の修正、新たな展開を検討する。さらに、メディアの取材を積極的に受け、本学のブランド・イメージの向上を図る。

■研究成果

**<研究1> 牟岐町栽培センターでのアオサノリ養殖の実証**

アオサノリ養殖の実証試験のため、令和3年度4月に牟岐町と共同研究協定を締結し、町が管理するアワビ種苗生産施設（牟岐町種苗栽培センター）を使用した。同年6月1日にFRP水槽（300L）2基とプール水槽（3.5tサイズ）を搬入し、配水管等の設置後、6月15日から試験を開始した。種苗は報告者らが確立した方法（サルーシン添加条件下、1及び5Lマリンプラスコを用いて室内培養する手法）によって作成した5±5mmの葉状体を使用した。FRP水槽1基当たり50±10gの種苗を投入し、成長に応じてプール水槽へ移行した。水温が20度を超えた6月25日以降は、高温耐性株として選抜した2種の株（株A、株B）を用いて比較試験を実施した（選定の詳細は<研究2>を参照）。室内培養試験では、株Aの方が高い温度耐性（31.5度）を示したが、実際の屋外養殖では、株B（温度耐性：30.0度）の方が安定した成長を示した。現在、株Bを用いて主に試験を行っており、開始から約9ヶ月が経過した。8月10～27日の期間においては、線状降水帯や台風の発生、それに伴う日照不足（平均5000～7000lux）から成長抑制や葉体の成熟分解等が観察されたものの、それ以外のシーズンにおいては、汲み上げ表層海水のみで良質なアオサノリが養殖できている（図A、B）。夏季のシーズンでは1週間で平均5倍の高い成長率を示すことも確認できた。一方、水温が低くなる12月以降は2～3倍の成長率に留まったが、気温水温を考慮すると一般的な成長率である。今後も継続して養殖試験を実施し、年間生産量等を見積る予定である。また、9月1日には、地下海水を汲み上げるためのボーリング調査を実施した。本地域は、地質的には2.75mまでが盛土（山土による礫質土）、2.75mから砂岩であり、3.3mから泥岩に変化して着岸したと考えられる。その間3.15～3.30mの間に開口亀裂があり、海水の取水が可能であることから、地下約1.00～4.00m間を取水区間として取水ポンプを設置し（図C）。現在、本ポンプからは毎分30～60Lの地下海水が取水できている。汲み上がった地下水においては、薬学部薬物治療学教室の角、藤代岡先生にご協力いただき、ICP-MSを用いて地下水に含まれるミネラル成分等を分析定量して頂いた。その成果として、本地下水は、海藻養殖で不足しやすいマンガン（85ppb）や鉄（2.3ppb以上）を豊富に含む一方で、ヒ素や鉛等の重金属が少ないことが分かった。今後、表層海水の栄養塩やミネラルが低下したタイミングで試験養殖に利用する。

② 令和3年度の事業成果



**<研究2> アオサノリ高温耐性株の選定とその培養試験**

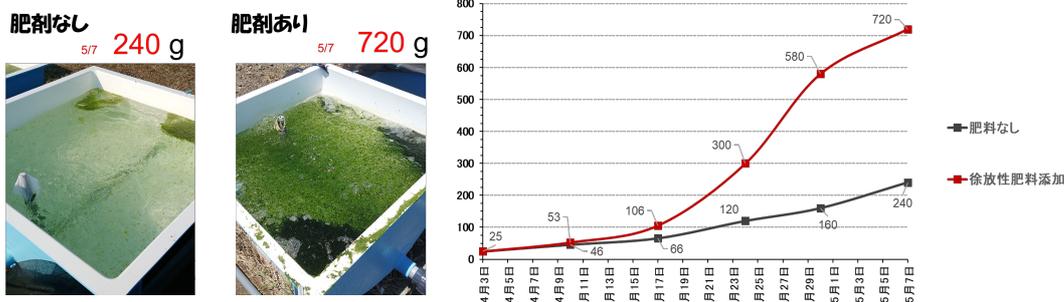
高温耐性株の選定を目指して、これまで全国各地（福島県松川浦、高知県四万十川下流及び土佐湾沖、愛知県三河湾、熊本県天草沖、三重県伊勢湾沖、鹿児島県屋久島沖、徳島県鳴門ウチノ海沖、沖縄県宜野湾及び久米島沖）に自生しているアオサノリを採集した。アオサノリの生活環は、まず成熟した葉状体から雄/雌性の配偶子が形成されたのち、接合して孢子体が形成される。その後、減数分裂を繰り返して遊走子嚢へと成長し、そこから光に対して負の走行性を示す遊走子が形成されて葉状体へと成長する。したがって、選抜育種を行うためには、各地で採集したアオサノリから純度の高い遊走子を採取することが重要である。まず、採集したアオサノリ葉体に付着しているその他の微細藻や微生物を顕微で除去した。その後、独自開発した条件で成熟培養し、配偶子の採取と雄/雌性配偶子の接合を経て遊走子を採取した。地点の異なるものを含め41種類の遊走子の採取に成功した。その後、第一相スクリーニングとして、藻類成長因子サルーシン存在下、26度水温の条件で培養を行った。このスクリーニングで6種類の26度耐性株を選抜することができた。この6種の株については、再度、成熟と接合を繰り返して遊走子を採取し、第二相スクリーニングとして30度の水温条件で培養した。そして、30度の高水温でも正常に成長する2種類の株の選定に成功した。選定した2種の株A、Bについては、その後、詳細に温度耐性を測定することで、株Aの温度耐性が31.5度、株Bは30.0度であることを明らかにした。

**<研究3> ドラッグデリバリーシステム技術による海藻栽培用徐放性肥剤の実用化**

近年、海藻養殖海水中の栄養塩濃度低下がノリやワカメなどの色調を低下（色落ち）させる事象が多発している。陸上栽培で栄養塩濃度が低下した海水を利用すると、流水水槽中の養殖海藻の成長に影響を及ぼす。流水水槽中の栄養塩濃度を常に適切な濃度に維持への課題は、安価な肥剤と施肥作業の効率化である。これまで薬剤学的な技術（ドラッグデリバリーシステム、DDS）を利用して、新規の徐放性窒素肥剤の開発を試みてきた。陸上養殖条件に近づけた水槽で、海藻養殖に適した窒素濃度域が4-5日間維持できる徐放性肥剤ができた。今回、実験室と実際の陸上養殖では環境が異なるため実用化に向けて新たに開発を試みた。具体的には穴が開いているプラスチックの容器に水溶性基材と硫酸を詰めた肥剤を作製、容器内で飽和溶液になり、0次速度で放出するリザーバー型を考案した。肥剤がすべて放出すると水面に浮いてくる仕組みとなっており回収しやすくなった。また、硫酸だけでなく、リン酸や市販の微量要素補給剤の金属塩を混ぜ徐放性肥剤を改良した。

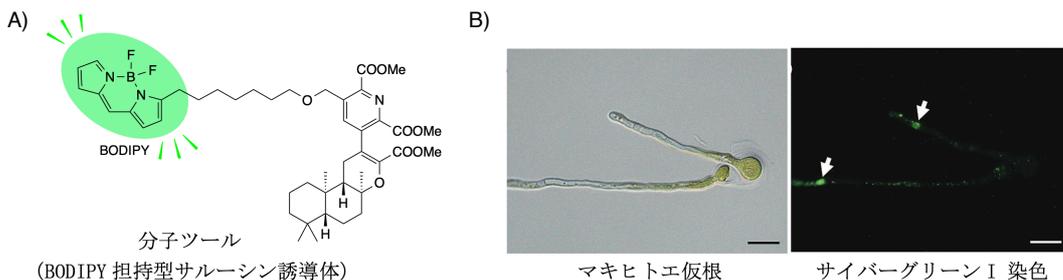
実際にヒトエグサを養殖する300Lの水槽に週1回、徐放性肥剤を添加して、経過を観察した。添加してから約1か月後には肥剤なしの場合と比較すると約3倍成長した（下図）。

徐放性肥剤を用いたヒトエグサ養殖試験（週1回投与、300L水槽、水5回転/日）



**<研究4> 藻類成長促進因子サルーシンのメカニズム解明**

サルーシンは *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* に属する海洋バクテリア YM2-23 株が産生するラブタン型ジテルペンの誘導体で、緑藻類の葉状体形成に必須の生長促進因子である。2014年には、本学で初の不斉全合成が達成され、その後、食用藻類のヒトエグサにも必須の生長促進因子であることが確認されている。しかし、これらの葉状性緑藻類に対する作用メカニズムは未解明で、関連する受容体や機序は明らかにされていない。このような背景のもと、活性発現メカニズムの解明に向けた足がかりとして、サルーシン標的タンパクの単離・同定を目的に、サルーシンに種々の機能性分子を導入した分子ツールの合成に取り組んできた。これまでのサルーシン構造活性相関研究の知見から、2種のモデル化合物と3種の蛍光標識型分子ツールを合成した。その後、生化学教室の葛原先生ご協力の下、サルーシンを添加せずに培養して分化誘導させた仮根（アオサノリと同種の緑藻類マキヒトエ由来）に対して、それぞれの蛍光標識型サルーシンを添加して組織への局在を観察した。この結果として、緑色蛍光色素のBODIPYを導入した分子ツール（図Aサルーシン誘導体）が高濃度で仮根の節に集積することがわかった。これは、核酸染色に用いられるシアニン系色素サイバークリーンIの染色箇所（図B）と強くマージすることから、サルーシンが細胞核もしくはそれに関連するタンパクに対して相互作用する可能性を示唆する興味深い新知見である。今後、本知見をもとにサルーシンが結合する核酸及び関連タンパクの単離を試みる予定である。本成果に関するサイバークリーンIの染色実験は高知大学海洋植物学研究室の平岡雅規先生、木下優太郎氏との共同研究によって成し得た成果であり、この場をお借りして深謝いたします。



<研究5> アサクサノリの成熟誘導物質の探索

前年度、紅藻類であるアサクサノリと同属であるスサビノリの原胞子の放出を誘導する化合物 A (ラセミ体) に類似したキラルな誘導体を合成し、それぞれ成熟促進活性を調べた。その結果、数種の化合物に活性が認められた (図 1)。すなわち、化合物 A を添加すると、果胞子を経て単胞子に成長、13 株に葉状体が確認できた。化合物 A を添加しないコントロール群に比べて単胞子形成率が高いことがわかった。一方、予備実験で細胞の成熟が見られた R-H-16 および 17 では、株の成長がコントロール群よりも遅く、果胞子形成までにとどまった。新たに側鎖上にアミド結合を有する誘導体についてそれぞれの立体異性体 (R-H-28 (S 体) と R-H-29 (R 体)) を調製し、活性試験を行った。先と同様に 10 mM 濃度で培養すると、それぞれの葉状株は白化し枯死した。そこで、濃度を 1 mM にしたところ、R-H-28 (S 体) ではコントロール群よりも単胞子形成率が上昇し、16 株中 11 株に葉状体形成が見られた。

30日目の結果 (16検体中)

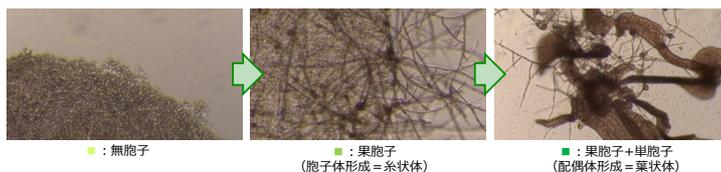
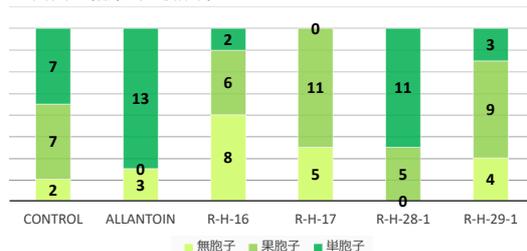
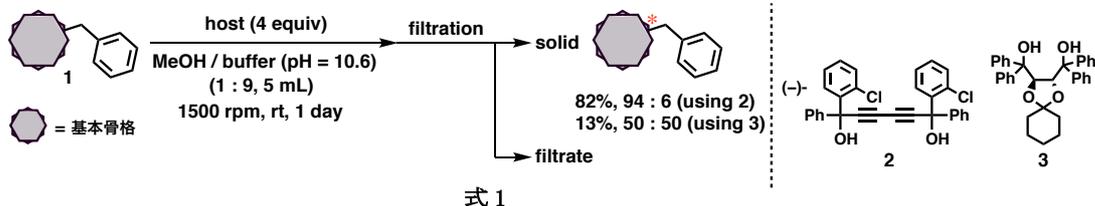


図 1

成長がコントロール群よりも遅く、果胞子形成までにとどまった。新たに側鎖上にアミド結合を有する誘導体についてそれぞれの立体異性体 (R-H-28 (S 体) と R-H-29 (R 体)) を調製し、活性試験を行った。先と同様に 10 mM 濃度で培養すると、それぞれの葉状株は白化し枯死した。そこで、濃度を 1 mM にしたところ、R-H-28 (S 体) ではコントロール群よりも単胞子形成率が上昇し、16 株中 11 株に葉状体形成が見られた。

今回、更に多様な置換基をもつ化合物 A 類縁体の光学活性体としての調製を目指した。そして、塩基性の平衡条件下、不斉結晶場での分子認識を利用して光学活性体を調製する方法 (デラセミ化法) を開発した。例えば、ベンジル置換体 (1) と光学活性なホスト分子をメタノール-緩衝液 (1 : 9) 混合溶媒中、激しく攪拌した。24 時間後、固体部分をろ別し、ホストに含まれるゲストの回収率及び光学純度を調べた。その結果、アセチレン誘導体ホスト 2 を用いた場合に 88% ee の S 体が 82% 回収できた (式 1)。一方、TADDOL 型ホスト分子 3 を用いた場合には、光学活性体は得られず回収率も低かった。



<研究6> 徳島文理大学天然物ライブラリーの構築とメタボロミクス解析

[1] 徳島文理大学天然物ライブラリーの構築

作成したライブラリー構築マニュアルにもとづき、固体試料、溶液試料として保管する。各研究室から、提供された試料約 100 mg をサンプル瓶に保存する。別途、マイクロチューブに試料 40~50 mg 程計りとり、40 mg/mL の DMSO 溶液を作成し、バーコード付きチューブに 700 μL、96 well プレートに 100 μL 保存する。試料には、抽出物の場合は P、化合物の場合は C を頭文字として通し番号をつけて保管する。また、各研究室から提供された情報とともにライブラリーのデータベースを作成した。現在までに、約 300 種類からなるライブラリー群を構築できた。作成したライブラリーの多様性を評価するため、データベース情報を元にライブラリー群を属で分類しパイチャートを作成したところ、本ライブラリーは 127 属からなることがわかり、多様性に富むライブラリーを構築することができた。さらに、本学保管の有用生薬についても同様に、マニュアルにもとづき順次ライブラリー化を進めている。

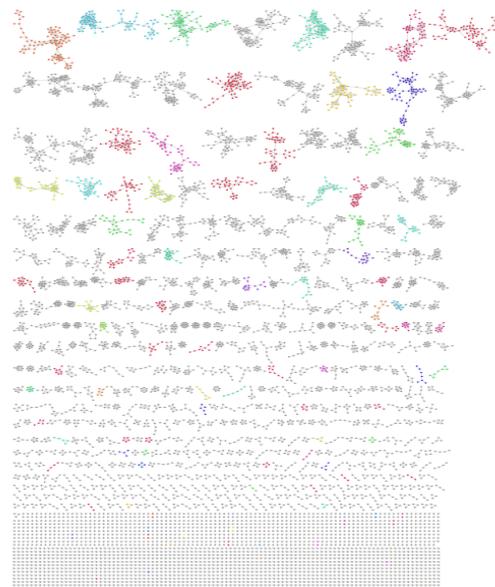


図 ライブラリー (40種) のモレキュラーネットワーク

## [2] メタボロミクス解析

構築した天然物ライブラリーのうち、約 40 種のライブラリーとサルーシンについて、LC-MS/MS 分析を行った。得られたデータを MZmine で解析後、GNPS にアップロードし、モレキュラーネットワークを作成した。今回解析に用いた約 40 種のライブラリー中にはサルーシン類似化合物を見出すことはできなかった。

また、GNPS に付随している複数の自動 In silico annotation を実施し、ライブラリー中の化学構造を予測した。その結果、数種の植物に含まれている化合物の構造をある程度推定することができた。また、オレアナン型トリテルペンの様に様々な植物に含まれる成分や、Illicium 属、Viburnum 属に含まれる特有成分の存在も MN から推測することができた。自動解析により、フラボノイド類、テルペン類、アルカロイド類など化合物の構造的特徴とライブラリー群との紐付けを実施することができた。

## <研究7> 海藻陸上栽培技術の革新性と地域貢献活動のブランディング戦略

### [1] 令和3年度徳島文理大学私立大学研究ブランディング事業報告会

令和3年12月4日(土)13:00~16:00、徳島文理大学2号館2Fアカンサススタジオにおいて、学内関係者のみに制限し事業報告会を開催した。コロナ禍中にもかかわらず、65名の学内関係者が参加した。

#### 報告演題

1. 令和3年度私立大学研究ブランディング事業体制  
私立大学研究ブランディング事業事務局 福山愛保
2. 牟岐町との共同研究によるヒトエグサ(アオサノリ)の陸上養殖試験の進捗状況  
薬学部教授 山本博文
3. 海藻の陸上養殖技術の開発とその多角的利用  
徳島大学生物資源産業学部講師 岡直宏
4. ドラッグデリバリーシステム技術による海藻栽培用徐放性肥剤の実用化に向けて  
薬学部助教 上田ゆかり
5. 徳島文理大学天然物ライブラリーの構築とメタボロミクス解析  
薬学部教授 久保美和
6. アサクサノリの成熟を誘導する活性化合物の探索  
薬学部教授 加来裕人

## [2] 研究成果報告

### 1) 論文発表

1) Development of blade cells and rhizoid cells aseptically isolated from the multicellular leaf seaweed *Gayralia oxysperma*.  
Y. Kinoshita, Y. Sato, T. Sakurai, T. Yamasaki, H. Yamamoto, M. Hiraoka, *Cytologia*, **2021**, in press.

2) ヒトエグサ養殖におけるサルーシンの活用  
山本博文、日本海水学会誌「西日本の海水科学研究(10)」、**2021**, 75(1) pp19-25.

3) 健常者のヒトエグサ継続摂取による体格指標、臨床検査値に及ぼす影響～ランダム化比較試験～

小川直子、犬伏知子、日本食生活学会誌、第32巻第4号 197-205 (2022).

### 2) 学会発表、招待講演

1) アサクサノリの陸上養殖に向けた分化誘導分子の探索

山崎直人、猪野純乃、加来裕人、山本博文、岡直宏、第6回 徳島マリンサイエンスシンポジウム(徳島)2021年、11月

2) 鳴門産アサクサノリの陸上養殖技術の開発

岡直宏、児玉吉平、浜野龍夫、山本博文、第6回 徳島マリンサイエンスシンポジウム(徳島)2021年、11月

3) A novel approach for biomass production by controlled switching between unicellular and multicellular growth modes in marine macroalgae.

	<p>Yutaro Kinoshita, Kouki Tanaka, Hirofumi Yamamoto, Yoichi Sato, Tetsuya Sakurai, Tomohito Yamasaki, Masanori Hiraoka, International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (AlgalBBB 2021).</p> <p>4) 本邦沿岸域より分離された海洋細菌の有機亜リン酸化合物利用能 浦田真平、山下春奈、山本博文、山崎直人、西脇永敏、足立真佐雄、山口晴生、令和3年日本水産学会、2021年3月26日～30日</p> <p>5) 磁気ビーズ担持型サルーンシンの合成研究 大城彩里、住友健人、山崎直人、江角朋之、兼目裕充、浅川義範、葛西祐介、今川洋、葛原隆、山本博文、日本薬学会第141年会、2021年3月26日～29日</p> <p>6) よみがえれ！ぼくたちのアオサノリ招待講義 山本博文、日本財団：四国放送主催 海と日本プロジェクト、2021年8月7日～8日</p> <p>7) 海藻生活環における海水の不思議：藻類成長因子サルーンシンの合成と応用 山本博文、143回日本薬学会中国四国支部例会、2021年1月23日</p> <p>8) 藻類摂取による脳内炎症予防効果の検討 中島健太郎、第14回「特色ある教育・研究」全学発表会、2021年9月10日</p> <p><b>[3] 新聞・TV報道</b></p> <p>1) 薬事日報 2021年1月1日、徳島文理大学アオサノリ陸上養殖を確立 <a href="https://www.bunri-u.ac.jp/faculty/pharmacy/topics/?p=87">https://www.bunri-u.ac.jp/faculty/pharmacy/topics/?p=87</a></p> <p>2) 四国放送 海と日本プロジェクト <a href="https://tokushima.uminohi.jp/report/アオサノリの完全陸上人工養殖oa/">https://tokushima.uminohi.jp/report/アオサノリの完全陸上人工養殖oa/</a></p> <p><b>[4] インターネットでの情報発信</b></p> <p>2021年度事業関連ニュースと事業成果をHPで発信する。 <a href="http://www.bunri-u.ac.jp/brand17/">http://www.bunri-u.ac.jp/brand17/</a></p>
<p>③ 令和3年度の自己点検・評価結果</p>	<p>令和3年度私立大学研究ブランディング事業自己点検・評価結果総評 (資料1)</p> <p>藻類成長因子サルーンシンの発見に基づき、本学の研究力を結集して行われています「藻類成長因子を用いた海藻栽培技術イノベーション」事業の「令和3年度の進捗状況」の内部評価報告をまとめます。内部評価委員6名による評価を委員のコメントも引用しながら要約しますと、基礎・応用研究と実用化研究は顕著な成果をあげていると評価されながら、起業化の評価については意見が分かれました。4種の基礎・応用研究すなわち①牟岐町栽培センターの協力によりおこなわれたアオサノリ養殖の実証、②周年養殖の鍵を握る高温耐性株の選定、③藻類成長促進因子サルーンシンのメカニズム解明、④アオサノリの成熟誘導物質の探索は成功しました。これらの基礎・応用研究はたいへん重要です。それらに加え、徳島文理大学天然物ライブラリーの構築も行われ、メタボロミクス解析が実施されました。内部評価委員から「アオサノリ研究の波及効果により、研究者の知見や視野を広め、研究人材の育成に貢献している」との指摘があります。</p> <p>ブランディング事業報告会は、令和3年12月4日(土)の午後、2号館アカンサスタジオで開催され、65名の参加者をえて6件の報告があり活発な質疑討論がおこなわれました。その他、各種学会における論文発表や招待講演、口頭発表が行われました。</p> <p>四国放送ではアオサノリの完全陸上人工養殖が取り上げられ、本学のブランディングに貢献できました。</p> <p>次の課題は起業化の実現です。内部評価委員の起業化への評価は1(努力が足りない)～4(非常に良く出来ている)に分かれ、「起業化に必要な技術的問題はおおむね解決している」という評価と、「起業化に必要な商品やサービスが生まれていない」という評価に分かれました。本技術が事業化され、市場競争に優位性を得られたならば、地域の水産業に大いに寄与すると期待されますが、まだその段階に進んでいないという意見だと思われれます。地域貢献についても評価は1(努力が足りない)～4(非常に良く出来ている)に分かれています。基礎研究の重要性は言うまでもありませんが、起業化に成功し「徳島文理大学の研究といえばアオサノリ」と言われるようになれば、アオサノリの陸上養殖技術開発がブランド・イメージ定着に大いに寄与すると期待されます。</p>
<p>④ 令和3年度の事業予算の使用状況</p>	<p>計画に則り事業予算は適切に使用された。詳細は平成3年度収支報告(資料2)を参照。</p>