

ヤブレツボカビ類における炭化水素高生産株の探索

鈴木 大智 (筑波大学 生物学類) 指導教員：石田 健一郎 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

海産従属栄養性ストラメノパイルであるヤブレツボカビ類はクロレラやドナリエラなどの光合成藻類の倍以上の脂質生産性を持ち、光を必要とせず従属培養が可能ことからオイル産生藻として注目されている。ヤブレツボカビ類の脂質組成の特徴として DHA、EPA などの多価不飽和脂肪酸 (PUFA) を多く含むことが挙げられる。

ヤブレツボカビ類は PUFA 以外にも、カロテノイド等のテルペノイド系炭化水素を生産する。カロテノイドは抗酸化剤として食品、化粧品分野で需要がある。

2010 年、ヤブレツボカビ類のオーランチオキトリウムに属する 18w-13a 株は乾燥重量の約 20% に及ぶスクアレンを含有していることが明らかとなった(1)。スクアレンは水素添加して化粧品や医薬品として利用される他、そのまま燃料として用いることができる。これにより、今まで DHA の生産者として認識されてきたヤブレツボカビ類は、バイオ燃料の生産者としても注目されるようになってきた。

18w-13a 株のスクアレン生産性は他のヤブレツボカビ類の数十倍～数百倍に及ぶが、DHA 生産株ほど高密度まで増殖せず、流加培養に適さないという欠点がある。本研究では新たなサンプルから単離株を確立し、TLC による脂質組成の評価を行うことで、ヤブレツボカビ類における新たな炭化水素高生産株を確立することを目的とした。

方法

・培養株の作成

東京湾およびその他複数の地域 (鳥取、高知、和歌山、秋田、青森、北海道) から採取した海水、落ち葉、泥など計 151 サンプルを用いて、松花粉ベイト法によりヤブレツボカビ類と思われる細胞を単離した。単離株は、GTY 寒天培地 (グルコース 2%、トリプトン 1%、イーストエキストラクト 0.5%、30% 人工海水濃度、寒天 1.5%) で維持した。ヤブレツボカビ類の単離株から寒天培地での増殖の良いものを増殖能の高い有望株として選定した。

・単離株の同定

単離株の 18SrDNA の塩基配列を取得し、相同性検索ソフトウェア BLAST により、DNA データベースに記載されている既知の配列情報との相同性検索からヤブレツボカビ類の同定を行った。

・TLC 解析用藻体の培養条件

有望株は GTY 液体培地で前培養として 25°C、100 rpm で 5~7 日間の振とう培養を行ったのち、同様の条件で本培養を行い、藻体を回収した。

・薄層クロマトグラフィー (TLC)

回収した藻体は凍結乾燥により乾燥藻体としたのち、脂質抽出と TLC 解析を行った。溶媒での展開後に 20% 硫酸をスプレーし、温風で加熱して脂質を検出した。

結果と考察

89 サンプルから 857 株の単離を行った。BLAST を行った 185 株のうち、176 株がヤブレツボカビ類であった。また、東京湾の単離株は 7 属のヤブレツボカビ類から構成され、29% が *Oblongichytrium* 属、22% が *Thraustochytrium* 属、17% が *Schizochytrium* 属に分類された。これら 3 属が東京湾のヤブレツボカビ類の大部分を占めると考えられる。

得られた単離株から 129 株の有望株を選び、TLC スクリーニングを行った。23 株の TLC スクリーニングの結果、5 株のスクアレン産生株 (図 1) と 8 株のカロテノイド産生株 (図 2) が得られた。

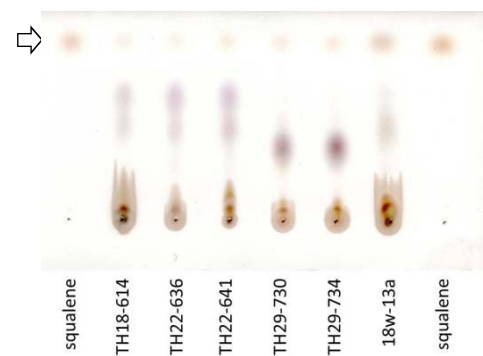


図 1 : スクアレン生産性の TLC スクリーニングの一部。18w-13a 株はスタンダードとして用いた。

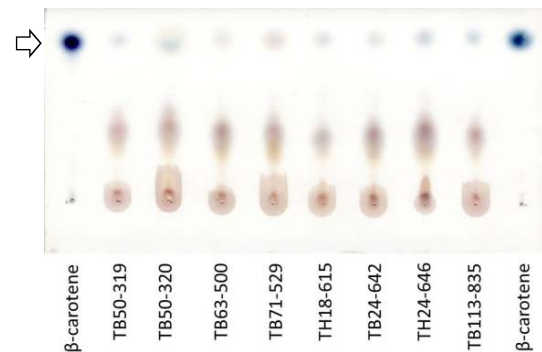


図 2 : カロテノイド生産性の TLC スクリーニングの一部。

研究のまとめと今後の展望

本研究では、多くのヤブレツボカビ類の単離株を得ることができ、その中からいくつかの炭化水素生産能を有する有望株を得た。

得られた有望株についてはスクアレンとカロテノイドの定量を行う予定である。また、流加培養への適応性試験や、DHA などその他脂質のスクリーニングも今後行っていく予定である。

参考文献

- (1) Kaya et al. "Thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. 18W-13a accumulates high amounts of squalene" *Biosci, Biotechnol, and biochem*, 75(11), 2246-2248, 2011