

緑藻 *Monoraphidium neglectum* の細胞形態と Ca²⁺の関係についての研究

中川 朔良 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 鈴木 石根 (筑波大学 生命環境系)

[背景・目的]

近年、再生可能エネルギーへの関心の高まりにより、微細藻類を用いた持続的なオイル生産方法が注目されている。原料として利用される藻類は、バイオマス生産性、脂質生産性、生産する脂肪酸の種類による経済的妥当性によって決定される(Dhup and Dhawan, 2014)。

緑藻 *Monoraphidium neglectum* は、生育速度が速く、中性脂質を蓄積するオイル産生藻類として同定された種であり、広い pH 範囲及び 1.0 % NaCl の塩濃度まで増殖できる(Bogen et al. 2013)。これらの特徴から、*M. neglectum* は微細藻類を用いた油脂生産の観点で注目されている。

M. neglectum は、所属研究室において微細藻類の培養を維持するのに使われている BG-11 培地、またはハイポネックスジャパン社のハイポネックス原液という液体肥料を水道水 (筑波大学・生物農林学系 D 棟) で希釈して調整した培地 (以下、HYP(T)培地) で維持されている。しかし、HYP(T)培地の水道水を実験室グレードの超純水 (Milli-Q, Merck) に変更したところ、*M. neglectum* の生育が著しく阻害されることを見出した。また、異なる培地条件において細胞形態の変化も見られた。*M. neglectum* は、培地中の NaCl の濃度により細胞形態が変化することが報告されている (Bogen et al. 2013)。また、所属研究室ではこれまでに CO₂ 過剰条件下において培養した際、細胞の肥大化が生じるという知見も得られている。これらのことから、本種は何らかの要因により形態を変化させる特徴があると考えられる。これを受けて、どのような要因が細胞の形態に影響を与えるのか、水道水と超純水を比較して実験を行った。

[方法]

M. neglectum A11 株を HYP (T)培地の水道水を実験室グレードの超純水 (Milli-Q, Merck) に変更した HYP (M)培地において 3 日間前培養した後、6 日間それぞれの培地で本培養しサンプルを回収した。通気培養は、空気通気 (25 ml/min)、25°C、60 μmol photons m⁻² s⁻¹ の連続光照射で行った。

・透過型電子顕微鏡 (TEM) による細胞の観察

本培養 6 日目の細胞を、グルタルアルデヒドと OsO₄ によって二重固定し、酢酸ウランとクエン酸鉛染色液で染色し、細胞内構造を観察した。

[結果と考察]

各地の水道水を用いて細胞を培養したところ、水道水の採水場所による細胞の生育に差は認められなかった。イオン分析・イオン添加実験の結果、すべての水道水に Mg²⁺、SO₄²⁻、および Ca²⁺ が含まれ、BG-11 培地と比較して生育に十分量含まれていることが明らかとなった。Mg²⁺、SO₄²⁻ の添加は、細胞のクロロフィル量と QY 値を改善したが、細胞の増殖には影響を与えなかった。一方 Ca²⁺ の添加は、細胞増殖、クロロフィル量、QY 値を回復させ、また、細胞形態に大きく影響することが明らかとなった (図 1)。

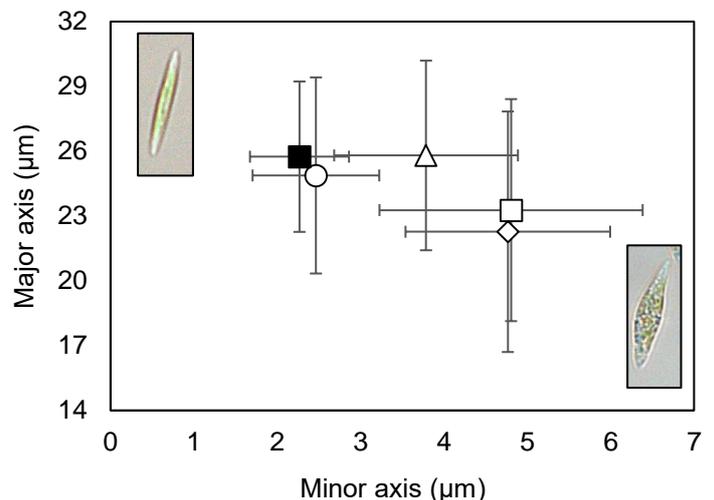


図 1. 培地と細胞形態の関係

□: HYP(M)培地、◇: HYP(M)+MgSO₄培地、△: HYP(M)+CaCl₂培地、○: HYPO(M)+MgSO₄+CaCl₂培地、■: HYP(T)培地で生育した細胞の長径・短径 (エラーバー: 標準偏差)。写真左: HYP(T)培地で生育した細胞、写真右: HYP(M)培地で生育した細胞。

Ca²⁺ を含まない培地で生育した細胞は、細胞の横幅が増加した。また、光学顕微鏡による観察から、細胞内に複数の顆粒が認められ、TEM 解析により液胞内に多数の電子密度の高い構造が認められた。これらのことから、Ca²⁺ の欠乏条件下で細胞内に新たに顆粒が形成され、同時に細胞形態が変化したことが考えられる。今後はその顆粒がなんであるかを明らかにし、その形成と形態変化の機構について解明を試みたい。

[参考文献]

Bogen, C. et al. (2013) *BMC Genomics* 14: 926

Dhup, S., Dhawan, V. (2014) *Biores. Technol.* 152: 572–575