

「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」
平成 22 年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

白岩 善博

筑波大学生命環境系・系長・教授

海洋ハプト藻類のアルケノン合成経路の解明と基盤技術の開発

§1. 研究実施体制

(1)「筑波大学」グループ

- ① 研究代表者: 白岩善博 (筑波大学生命環境系、教授)
- ② 研究項目
 - A. 代謝改変のための基礎研究および基盤技術の開発
 - B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケノン合成経路の解明
 - C. 高アルケノン生産株の選抜と培養及びアルケノン生産条件の最適化

(2)「北海道大学」グループ

- ① 主たる共同研究者: 沢田 健 (北海道大学大学院理学研究院、准教授)
- ② 研究項目
 - B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケノン合成経路の解明
 - C. 高アルケノン生産株の選抜と培養及びアルケノン生産条件の最適化

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

A. 代謝改変のための基礎研究および基盤技術の開発

貯蔵多糖の合成系の解明 アルケノンの合成量を増強するためには、貯蔵多糖合成への代謝フラックスを脂質・アルケノン合成に振り分けることが効果的である。円石藻は、アルケノンに加えて、中性多糖(β-グルカン)や、酸性多糖など、様々な形で炭素を蓄積する。24 年度には、各

物質への炭素フラックスを測定するために、アルケン・中性多糖・酸性多糖を同時分画する手法を確立し、円石藻では脂質・アルケンへの炭素フローが優先することを明らかにした。

B. 比較メタボローム・トランスクリプトームによるアルケン合成経路の解明

比較解析に使う株のスクリーニング 24年度で、初年度に入手した円石藻株や種間における、アルケン・アルケン蓄積量や組成の比較を完了した。その結果、株間におけるアルケン・アルケン組成に大きな差が観察され、比較解析や用途に応じた株の選別を可能にした。

C. 高アルケン生産株の選抜と培養及びアルケン生産条件の最適化

アルケン合成株が合成するアルケンはバイオマス燃料・原料としてのポテンシャルが高く、アルケンの代謝系との関連が考えられる。そのため、アルケンの定量分析・構造決定を進め、異なる温度条件下でのアルケン蓄積量の評価を行った。

アルケンの培養液あたりの合成量から、低緯度海域産株の *Emiliana* および *Isochrysis* をアルケン高生産株として選定した。*Isochrysis* のアルケン高生産株では、アルケン合成量も最大であることを見出した。アルケン合成量は至適増殖温度よりも数℃低い温度で培養した低緯度海域産 *Emiliana* において最大であることを見出した。また、4不飽和アルケンの存在比増加は高緯度海域から採取された *Emiliana* の低温条件培養で顕著であった。湖や汽水のアルケン生産者である *Chrysothila*, *Isochrysis* は3不飽和、4不飽和アルケンの割合が顕著に高く、C₄₀の超長鎖アルケンを含むことが特徴的であることを見出した。

ハプト藻のアルケン生産株がもつ C₃₁, C₃₃, C₃₇, C₃₈ アルケンはこれまでに代表的な化合物の構造が報告されているが、幅広い円石藻株や種の分析を行った結果、構造が未知の異性体

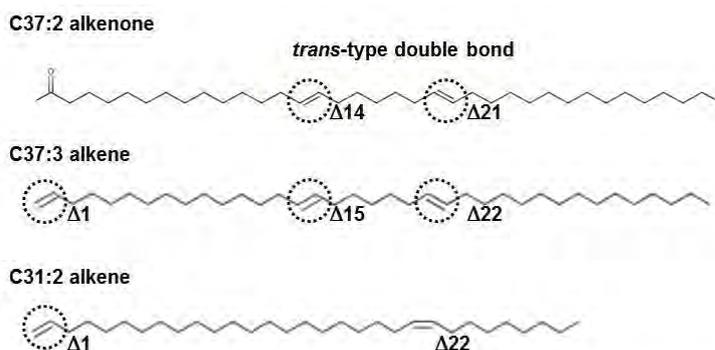


図 円石藻 *Emiliana huxleyi* が蓄積するアルケンおよびアルケンの構造の例

も検出した。*Emiliana* と *Gephyrocapsa* 株から本研究で新規に C₂₉ アルケン (ノナコサジエンの二重結合位置異性体 3 種) を検出した。C₂₉ アルケン含有 *Emiliana* 株の大量培養試料の炭化水素画分を用い、二重結合に対して付加反応を行う誘導体化処理と

GC-MS による解析により、C₂₉ アルケン異性体の二重結合の位置を特定した。C₃₇, C₃₈ アルケンは二重結合の位置およびシス-トランス異性の特徴がアルケンと一致するなど構造的にアルケンと極めて関連性の高い化合物で、*Emiliana*, *Gephyrocapsa*, *Isochrysis* の一部の株に高い割合で含まれた。中高緯度由来の C₃₇, C₃₈ アルケンを含む *Emiliana*, *Gephyrocapsa* 株において、炭化水素画分に占める C₃₇, C₃₈ アルケンの割合は 20℃より

15°Cまたは 17°Cで増加した。温度依存のアルケン/アルケノン比変化の大きい C₃₇, C₃₈アルケン含有株はアルケノン・アルケン合成に関する比較解析の候補となる。

地中における原油生成を想定して、種々の微細藻類と熱帯鉱床から単離した好熱菌を共培養し、その後無酸素条件で熱分解した。その結果、藻体の脂質含量とオイル・メタン生産量が相関し、ハプト藻 *Emiliana huxleyi* が原油成分と最も類似したアルカン分子の生産に寄与することを見出した。これは、ハプト藻類がバイオ燃料生産の好適生物であることを証明した[原著論文1]。

さらに、アルケノエイトとアルケノン比が塩濃度に相関して変化することを見出した。また、常温培養時において、塩濃度変化によりアルケノンの不飽和度に顕著な変化が生じることを見出した。これらの成果は、アルケノンを古水温計として利用する際の精度を上げる新たな知見となるとともに、アルケノン・アルケノエイトをバイオ燃料として利用する場合の培養条件とオイルの化学特性の関係を示す重要なデータとなる[原著論文 2]。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Kunio Yamane, Shigeru Matsuyama, Kensuke Igarashi, Motoo Utsumi, Yoshihiro Shiraiwa, Tomohiko Kuwabara, “Anaerobic coculture of microalgae with *Thermosipho globiformans* and *Methanocaldococcus jannaschii* at 68°C enhances generation of n-alkane-rich biofuels after pyrolysis”, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 79, No.3, pp. 924-930, 2013.
2. Makiko Ono, Ken Sawada, Yoshihiro Shiraiwa, Masako Kubota, “Changes in alkenone and alkenoate distributions during acclimatization to salinity change in *Isochrysis galbana*: Implication for alkenone-based paleosalinity and paleothermometry”, *Geochemical Journal*, vol. 46, No. 3, pp. 235-247, 2012.