

「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

H25 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
 - ・代謝改変のための基礎研究および基盤技術の開発
 - ・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
 - ・培養条件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
 - ・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
 - ・アルケノン合成の中間体のバイオリファイナリーとしての利用
 - ・培養条件及びアルケノン生産条件の最適化

§ 2. 研究実施の概要

海洋ハプト藻類で乾燥重量の 20-30%を占める脂質アルケノン(超長鎖不飽和ケトン)は直鎖の炭素数36~40の炭化水素分子であり、それらをバイオ燃料や脂質バイオリファイナリー原料、特にジェット燃料として利用するための技術開発を目的として本研究を行っている。本研究の特徴は海洋性微細藻類を用いることで、将来の大量生産に世界的に不足が懸念される淡水を使用せず、海水を利用することにも特徴がある。

本年度はアルケノン分子種の制御や生産性のさらなる強化に焦点を当て基盤技術の開発を行った。まず、アルケノン合成系を推定するためにトランスクリプトーム解析を行った結果、アルケノン・アルケンの合成・分解に関与すると考えられる候補遺伝子を抽出した。さらに、アルケノンの不飽和度を上げる不飽和化酵素の候補を見出した。また、藻類メタボローム解析技術の開発を成し遂げ、解析を進めている。これらのことから、アルケノンが脂肪酸を経て合成されていること、2炭素分子の伸長反応による脂肪酸伸長によって合成されるものと推定した。この推測は、阻害剤を用いた実験からも支持されることを明らかにした。さらに、GC-MS による高濃度高感度測定により、ハプト藻類円石藻の *Emiliana huxleyi* ではこれまで報告されていなかった C_{27:2} アルケンを新たに同定することに成功した。現在、種々の円石藻ゲノムのドラフト配列を得て、アルケノン代謝系の多様性の解析も進めている。

では、実際に光合成によって固定された炭素が、アルケノンにどの程度分配されるのだろうか？その答えを求めするため、¹⁴C-トレーサー実験を行い、細胞によって固定された全 ¹⁴C-炭素の約 17%がアルケノンへ分配されることから、アルケノンが積極的に合成されていることを明らかにした。我々は、アルケノンは細胞内で細胞小器官(アルケノンボディ)に蓄積していると考えている。そこで、このアルケノンボディを抽出し、そこに含まれるタンパク質を網羅的に解析し、アルケノンボディが従来の脂質体と異なるタンパク質組成を持っていることを明らかにした。

以上の様な基礎的な知見を基盤にして、異なる培養条件下でのアルケノン蓄積量および各誘導体の組成の変化に着目して、特定のアルケノン分子種を高濃度に集積する株と条件の組み合わせを探索するなどの、アルケノン生産条件の最適化を行った。しかし、培養条件の最適化だけでは限界があるため、さらに、代謝改変によってアルケノン生産量を増強したハプト藻を作出するための形質転換技術の開発も進行中である。尚、本研究課題では、個々の実験項目において、筑波大が培養、代謝、遺伝子、メタボロミクス等を主に担当し、北大が長鎖脂質の化学組成の同定、定量解析、分析法の構築等で一部を分担する密な共同研究の形で成果を挙げたものである。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. Hideto Nakamura, Ken Sawada, Hiroya Araie, Iwane Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, “Long chain alkenes, alkenones and alkenoates produced by the haptophyte alga *Chrysothila lamellosa* CCMP1307 isolated from a salt marsh.”, *Organic Geochemistry*, vol. 66, pp.90-97, 2014 (DOI: 10.1016/j.orggeochem.2013.11.007)
2. Shin-ya Fukuda, Yurina Suzuki and Yoshihiro Shiraiwa, “Difference in physiological responses of growth, photosynthesis and calcification of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* to acidification by acid and CO₂”, *Photosynthesis Research*, 2014, (in press, DOI: 10.1007/s11120-014-9976-9) (Online 版発行済み)