

「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

H26 年度
実績報告書

河野重行

東京大学大学院新領域創成科学研究科

教授

微細藻類の倍数化と重イオンビーム照射によるバイオ燃料増産株作出に関する新技術開発

§ 1. 研究実施体制

(1)「河野」グループ

- ① 研究代表者:河野 重行 (東京大学大学院新領域創成科学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・微細藻類の人為的倍数性の誘導と重イオンビーム照射

(2)「大矢」グループ

- ① 主たる共同研究者:大矢 禎一 (東京大学大学院新領域創成科学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・微細藻類の形態的特徴を把握する汎用 CalMorph の開発
 - ・汎用 CalMorph を用いたダイナミック・スクリーニング

(3)「服部」グループ

- ① 主たる共同研究者:服部 正平 (東京大学大学院新領域創成科学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・微細藻類の倍数化と欠失によるゲノム再編と有用遺伝子探索

(4)「都筑」グループ

- ① 主たる共同研究者:都筑 幹夫 (東京薬科大学生命科学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・変異株の大量培養適性評価による優良株の取得

§ 2. 研究実施の概要

クロレラ類は通常の TAP 培地でもデンプンを蓄積し、培養を続けるとデンプンはオイルに変換される。これらの蓄積と変換の過程はイオウ欠乏培地で培養すると加速される。この傾向はクロレラ類の中でも *Parachlorella kessleri* で最も著しく、オイル量は乾燥重量当たり通常 10~20%だったものが 40~50%近くにもなる。デンプンが減少してオイルが増大するというトレードオフはクロレラ類では広く観察され、*Chlorella sorokiniana* の連続超薄切片の電顕写真をコンピューターで三次元立体構築した電顕 3D でも明かである。重イオンビーム照射で得られた株のなかには、イオウや窒素が欠乏した培地でデンプン量が際限なく少なくなりオイル量が野生株の 6.4 倍になるような株も単離されているが、今回は新たなスクリーニング法を考案することで、クロレラ類が普通生産することのない不飽和長鎖脂肪酸 (C22:1) を大量に蓄積する株を取得できた。また、クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) のトリアシルグリセロール (TAG) 蓄積には、複数の TAG 合成関連遺伝子が、イオウ欠乏により生じるシグナル系 (SAC) により発現誘導されることも明らかにした。

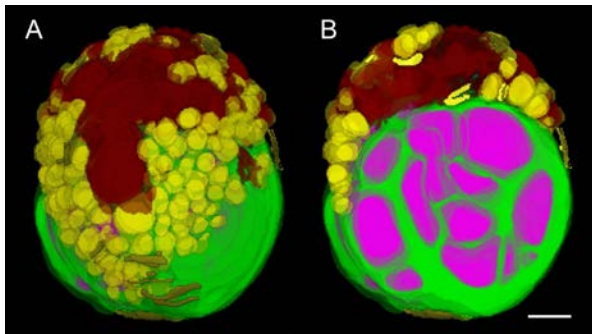


図1クロレラの電顕 3D イオウ欠乏培地で培養してすぐのクロレラ *C. sorokiniana* を電顕 3D で立体構築し、細胞壁と細胞膜を除いた細胞表面層が見えるようにし(A)、それを半分に割って細胞内部が見えるようにした(B)。黄色の顆粒がオールドロップで葉緑体の外側に分布している。B で見ると細胞の下側の 2/3 以上が葉緑体で、そこには紫色で示した不定形デンプン粒が多数見られる。デンプンとオイルが1つの細胞に共存していることがわかる。このデンプンとオイルの量はトレードオフの関係にある。

一方、アスタキサンチンを蓄積するヘマトコッカス (*Haematococcus pluvialis*) では、細胞が示す細胞形態を正確に把握し、顕微鏡画像から数値データを取得できるソフトとハイパースペクトラルカメラを用いることで、有用物質の生産量を定量する新しいシステムを開発した。ヘマトコッカスの各種培養条件下での顕微鏡スペクトル画像千枚を用いて新たに開発した HyperCalMorph システムの性能評価を行ったところ、数種類の色素の細胞内分布を測定でき、様々なステージの細胞で特徴的な色素分布を認識できることがわかった。これによって、ヘマトコッカスの生育状況とアスタキサンチンを含む色素量の動態の正確な把握が可能となっている。

重イオンビーム照射で得たオイル生産能に変異のある株の中でも、PK4 株は通常培地ならびに窒素欠乏培地において、そのオイル蓄積量は野生株よりも多く、屋外大量培養の実証実験でも乾燥重量あたり 66% のオイル蓄積を示す。そこで、Ion Proton と MiSeq による全ゲノムシーケンスを実施し、PK4 が 1 倍体であることを確認するとともに、親株に PK4 の全ゲノムシーケンスを張り付けることで変異部位を探索している。一方、PK4 のような突然変異体の実用化には、大規模な施設が必要となる。通常は屋外のレースウェイや円形培養槽などでの培養が考えられるが、温暖かつ良好な日照条件の土地が大量に必要となり、日本国内での生産は不可能に近い。そのため、クロレラを固相表面で連続培養する、新たな培養技術の開発を進め、大学の研究室でも乾燥重量にして 1 日 1g 程度の生産性を維持できる新たな培養系の構築に成功した。この新規培養法は従来型の培養槽に比べて、加温や補助光照射が容易なので、東京でも通年培養が可能であること、太陽光パネルによる電源のみでの培養も可能あることが明らかになった。