

2P-121 混合栄養緑藻 *Podohedriella falcata*によるトリグリセリドの高蓄積○加藤 康夫¹, 藤城 迪子¹, 伊藤 純平¹, 野村 泰治¹, 荻田 信二郎¹, 篠原 信²¹富山県大・工・生工研セ, ²農研機構・野茶研
ykato@pu-toyama.ac.jp

【目的】近年、食糧との競合、限られた農地の利用や、水の転用等の問題がなく、大量培養が可能な微細藻類が蓄積する脂質を利用した次世代バイオ燃料生産に関する研究が活発となっている。今回演者らは、本プロセスの実用化を目指し、バイオディーゼル原料として利用可能なトリグリセリド (TG) 類を混合栄養条件下で高蓄積する藻類、特に緑藻株に着目して自然界からスクリーニングを行った。

【方法及び結果】富山県内外の湖沼水を固体無機塩培地上に塗布後、明条件 (独立栄養) 下で培養し、緑藻株を単離した。この際、培地中に抗細菌物質を混合添加することで、混在する細菌や藍藻類を排除でき、効率的な緑藻の選抜が可能となった。単離した緑藻株を炭素源として Glucose または Glycerol を含む固体培地上で明・暗条件下にて培養して生育特性を調べ、混合栄養下で良好に生育するものを百株強、二次選抜した。菌体内に蓄積する脂質を有機溶媒にて抽出後、TLC 分析を行うことで最も高い TG 蓄積能を有する MF924 株を選抜し、18S、5.8S、28S (部分) rDNA およびそのスペーサー領域のシーケンス解析より *Podohedriella falcata* と同定した。本菌の菌体乾燥重量当たりの TG 蓄積量は 70% を超え、その構成脂肪酸はパルミチン酸、オレイン酸、リノール酸であった。本菌の単位培地量当たりの菌体収量は、醸造汁廃液を並行複式無機化法にて硝化させた耕水を窒素源、Glucose を炭素源として含む培地を用い、35℃にて明条件下で培養した時に最大となった。

Accumulation of triglycerides by mixotrophic green algal strain *Podohedriella falcata*○Yasuo Kato¹, Michiko Fujiki¹, Itoh Jumpi¹, Taiji Nomura¹, Shinjiro Ogita¹, Makoto Shinohara²
¹Biotechnol. Res. Center, Toyama Pref. Univ., ²NARO/NIVTS)**Key words** triglyceride, green algae, mixotroph, accumulation**2P-123 細胞表層の親水性構造である O 抗原糖鎖の欠損によりラン藻の脂肪酸放出は効率化される**○加藤 明宏¹, 鶴瀬 和秀¹, 高谷 信之^{1,4}, 池田 和貴^{2,4}, 小島 幸治^{3,4}, 愛知 真木子^{3,4}, 前田 真一^{1,4}, 小俣 達男^{1,4}¹名大院・生命農学, ²理研・IMS, ³中部大・応生, ⁴JST・CREST
omata@agr.nagoya-u.ac.jp

近年、光合成微生物を用いた有用物質生産が注目を集めており、その1つの方法としてラン藻による脂肪酸の生産がある。しかし、この生産系には、遊離脂肪酸が細胞の生育を阻害するため生産が持続しないという問題がある。我々が作製した *Synechococcus elongatus* PCC7942 由来の脂肪酸生産株も、高生産条件である強光下 (180 μE m⁻² s⁻¹) で長時間培養すると青く変色して死滅した。この生育不良の原因として、疎水性物質である脂肪酸の放出が細胞表層の親水性構造に阻まれて効率的に行われていない可能性が考えられた。そこで本研究では、細胞表層の親水性構造である O 抗原糖鎖を欠損させた脂肪酸生産株を作製し、生育と細胞内外の脂肪酸量を野生型と比較した。その結果、培養9日目野生型は青くなって死滅したのに対し、O 抗原糖鎖欠損株はまだ緑を保っていた。そして培養8日目では O 抗原糖鎖欠損株の培地中の遊離脂肪酸量は野生型よりも 20% 増加し、逆に細胞内の遊離脂肪酸量は野生型よりも 20% 減少していた。以上のことから、O 抗原糖鎖の欠損によって細胞表層の疎水性が増したことで脂肪酸の放出が効率化され、生育不良が緩和されたと考えられた。

Modification of cell surface structure facilitates secretion of free fatty acid (FFA) in a FFA-producing strain from *Synechococcus elongatus*○Akihiro Kato¹, Kazuhide Use¹, Nobuyuki Takatani^{1,4}, Kazutaka Ikeda^{2,4}, Kouji Kojima^{3,4}, Makiko Aichi^{3,4}, Shin-ichi Maeda^{1,4}, Tatsuo Omata^{1,4}¹Grad. Sch. Biologic. Sci., Nagoya Univ., ²RIKEN IMS, ³Coll. Biosci. Biotechnol., Chubu Univ., ⁴CREST, JST)**Key words** cyanobacteria, fatty acid**2P-122 油脂生産性緑藻における暗期油脂代謝変異体の分離および解析**○早川 准平, 佐藤 絵衣子, 原山 重明
(中央大・理工・生命)
jhykw@bio.chuo-u.ac.jp

藻類を用いたバイオディーゼル生産には光エネルギーが不可欠である。しかしながら、太陽光を利用した屋外大量培養系においては夜間や培養槽の深さ、細胞密度の増加など、光が十分に利用できない状況は避けられない。この時、細胞内に蓄積された脂質やデンプンをはじめとするエネルギーは呼吸によって消費されてしまう。そこで、油脂生産性緑藻 *Pseudococcomyxa ellipsoidea* および *Pseudococcomyxa* sp. KJ より暗期に油脂分解が抑制された変異株を取得した。蓄積されたデンプンの分解は野生株、変異株いずれにおいても速やかに行われた。一方、油脂の分解については有意に抑制されており、暗所5日間を経て最も初期の含有量と比べて9割以上を保持していた。さらに、変異体の油脂代謝は完全に失われておらず、光を与えた場合、または、培地にグルコースを添加することで細胞の増殖のためのエネルギーとして消費することが示された。これらの結果より、蓄積された油脂の消費には2つの経路が考えられる。一つはエネルギー枯渇状況下でも脂質を分解する経路、もう一つは外部よりエネルギーが供給される状態でのみ脂質分解が起こる経路である。前者は変異株において欠損しており、暗期の細胞維持に脂質分解は必須ではないことが示唆された。後者の経路を明らかにし、増殖最終段階でのこの経路を抑制することが出来れば、さらなる油脂生産性の改善が期待できる。

Isolation and characterization of dark lipid metabolism mutant of oil-producing microalgae○Junpei Hayakawa, Eiko Sato, Shigeaki Harayama
(Dept. Biol. Sci., Fac. Sci. Eng., Chuo Univ.)**Key words** biomass, biodiesel fuel, metabolic engineering, lipid degradation**2P-124 ユーグレナのワックスエステル発酵における 3-ケトアシル CoA チオラーゼアイソフォームの役割について**○小山 啓一郎¹, 中澤 昌美^{1,2}, 上田 光宏¹, 阪本 龍司¹, 宮武 和孝³¹阪府大院・生環科・応生科, ²JST・さきがけ, ³帝塚山学院大・人間科
mami@biochem.osakafu-u.ac.jp

ユーグレナは、嫌気状態においてワックスエステル (WE) を発酵生産する。主成分は C14:0-C14:0 Alc であり、ジェット燃料等に適用できる軽質バイオディーゼルの原料となる。しかし、実用化には更なる生産量の向上、組成の改質などが求められている。WE はミトコンドリア脂肪酸 beta 酸化の逆行経路を経由して合成される。本研究ではその中で 3-ケトアシル CoA チオラーゼ (KAT) に注目した。ユーグレナの WE 合成において KAT が果たす役割を解明し、最終的には WE 合成を制御することを目的とした。ユーグレナ EST データベース上でミトコンドリア局在が予想される KAT を4種見出した (以下 EgKAT1~4)。各アイソフォームを RNAi によりノックダウンし、影響を調べた。嫌気状態での生存率は EgKAT3 ノックダウンでのみ低下し、約 50% であった。ガスクロマトグラフィーにより WE を分析した結果、EgKAT1 および EgKAT2 のノックダウンでは、WE 組成分布が短鎖長鎖にシフトしていた。EgKAT3 のノックダウンでは WE 組成に変化はなかったが、WE 総量はコントロールの約 30% に減少していた。EgKAT4 のノックダウンは WE 総量および組成に影響しなかった。以上のことから、WE 合成過程において機能する KAT アイソフォームを特定し、その役割について知見を得た。適切に KAT を代謝改変することが、WE 生産向上や WE 鎖長制御にとって非常に有効な手段となると結論した。

The roles of 3-ketoacyl-CoA thiolase isoforms in wax ester fermentation of *Euglena gracilis*○Keiichiro Koyama¹, Masami Nakazawa^{1,2}, Mitsuhiro Ueda¹, Tatsuji Sakamoto¹, Kazutaka Miyatake³¹Dep. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Life Environ. Sci., Osaka Pref. Univ., ²PRESTO, JST, ³Tezukayama Gakuin Univ.)**Key words** *Euglena gracilis*, wax ester, 3-ketoacyl-CoA thiolase