

講演番号：3J04-08

質疑応答日時、会場：3月16日 10:30～ ミーティングルームJ

CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術による回収率向上を目的とした遊泳不全ユーグレナ変異株の作出
CRISPR/Cas9 genome editing technology to create a motile defective *Euglena gracilis* mutant for improved the harvesting efficiency

○石川 まるみ¹、野村 俊尚^{1,2}、玉木 峻¹、尾笹 一成³、鈴木 智子^{2,4}、豊岡 公德²、広田 菊江¹、山田 康嗣^{1,5}、鈴木 健吾^{1,5}、持田 恵一^{1,2,6,7} (1理研・BZP、2理研・CSRS、3理研・RAP、4名大、5(株)ユーグレナ、6横浜市大、7長大)

○Marumi ISHIKAWA¹, Toshihisa NOMURA^{1,2}, Shun TAMAKI¹, Kazunari OZASA³, Tomoko SUZUKI^{2,4}, Kiminori TOYOOKA², Kikue HIROTA¹, Koji YAMADA^{1,5}, Kengo SUZUKI^{1,5}, Keiichi MOCHIDA^{1,2,6,7} (1RIKEN BZP, 2RIKEN CSRS, 3RIKEN RAP, 4Nagoya Univ., 5euglena Co., Ltd., 6Yokohama City Univ., 7Nagasaki Univ.)

産業利用する藻類の生産工程において、大量培養した細胞を回収するコストは生産コストの約 20～30%を占めるともいわれ、回収の効率化は生産コスト低減の課題である。本研究では、先行研究で確立した *Euglena gracilis* の CRISPR/Cas9 を利用した高効率ゲノム編集技術を用いて、遊泳に必要なべん毛の形成に関連する遺伝子である *Bardet-Biedl syndrome (BBS)* 遺伝子のホモログ、*EgBBS7* および *EgBBS8* を欠損させた *bbs* 変異株を作製した。これらの変異体は、べん毛を欠いた表現型を示し、運動解析ではべん毛による運動性を失っていた。沈降試験では、*bbs* 変異体が野生株 (WT) に比べて沈降速度が大きく、培養液を静置するだけでほぼ全量の細胞が沈澱した。加えて、産業利用上重要な増殖速度およびパラミロンや脂質の生産量は WT と同程度であったことから、本研究では *E. gracilis* の産業利用価値を保ちながら収穫に有利な形質を付与することに成功している。本成果は、健康食品分野やバイオ燃料分野で産業利用されている *E. gracilis* の生産効率向上に貢献すると共に、開発した高効率ゲノム編集技術を用いて産業応用のための有用株を得た初めての事例である。

Improving the harvesting efficiency of microalgae under mass cultivation is important, especially for photosynthetic flagellates with industrial potential, such as *Euglena*. However, an ideal strain has yet to be obtained via the precise genetic manipulation of flagellum-induced microalgal motility. Here we demonstrate that loss-of-function mutants of homologues of *Bardet-Biedl syndrome (BBS)* genes, which encode proteins involved in trafficking of flagellar components, show a non-motile phenotype. Using a CRISPR/Cas9-based genome editing system that we previously developed, we obtained *E. gracilis* mutants with deletions of the BBS homologues, *EgBBS7* and *EgBBS8*. These *bbs* mutants lacked the flagella and their motility. The utility of the *bbs* mutants as ideal strains for improved harvesting efficiency was demonstrated by their more rapid sedimentation compared to WT. Moreover, mutations in the *EgBBS* genes did not negatively affect the growth rate and production of cell contents, including paramylon and lipids. Therefore, we succeeded in obtaining ideal strains of *E. gracilis* via precise and stable genetic manipulation of BBS homologs in *E. gracilis*. These strains have the potential to improve this alga's harvesting efficiency. These results also provide new insights into the use of our CRISPR/Cas9 genome editing system to obtain ideal strains for industrial applications

Euglena gracilis, CRISPR/Cas9, the harvesting efficiency

発表責任者：持田恵一 (keiichi.mochida@riken.jp)