

講演番号：3J31p13

講演日時：3月19日 17:20～ J校舎 31会場

実用珪藻 *Chaetoceros gracilis* のバイオフィクトリー化に向けた基盤技術の開発

Development of basic technologies to utilize the diatom *Chaetoceros gracilis* as a biofactory

○伊福 健太郎¹、閻 東怡¹、西出 浩世²、山本 義治³、内山 郁夫²、菓子野 康浩⁴ (1京大院生命、²基生研、³岐阜大応用生物、⁴兵庫県大院生命理学)

○Kentarou IFUKU¹, Dongyi YAN¹, Hiroyo NISHIDE², Yoshiharu YAMAMOTO³, Ikuo UCHIYAMA², Yasuhiro KASHINO⁴ (¹Grad. Sch. Biostudies, Kyoto Univ., ²NIBB, ³Fac. Appl. Biol. Sci., Gifu Univ., ⁴Grad. Sch. Life. Sci., Univ. of Hyogo)

【背景、目的】

漁業資源として大量培養が行われ、実用化されている中心目珪藻、ツノケイソウ(*Chaetoceros gracilis*)は、高い環境適応能と高油脂生産性を有し、物質生産のプラットフォームとしての利用が期待されている。また光合成研究などの基礎研究の材料としても優れた性質を有し、研究事例が増えている藻類である。そこでツノケイソウを利用して、光合成機能を最適化し、温暖化ガスの二酸化炭素を有用物質へと変換するための基盤技術の開発を進めた。

【方法、結果】

次世代シーケンスにより *C. gracilis* のドラフトゲノム配列を取得し、他珪藻2種のゲノム情報と、RNA-Seqの情報をあわせて、シーケンスデータのアセンブル、および遺伝子領域の再予測を行った。その結果、14172 遺伝子が検出された。k-mer 頻度に基づく k-means クラスタリング、GC 含量およびカバレッジにより、葉緑体ゲノム配列の分離が可能であった。各々の遺伝子に対し、BLAST のトップヒット、および InterPro のドメイン予測を行った。

次に RNA-Seq の解析結果から推定された高発現遺伝子のプロモーター領域を10種取得し、形質転換ベクターを作成した。遺伝子導入には、我々が藻類に初めて応用した多重矩形波パルスエレクトロポレーション法を用いた。薬剤選抜に用いる抗生物質を探索したところ、1 mg/mL カナマイシンや 500 µg/mL ゲンタマイシンなどは増殖抑制効果がなく、ゼオシン、エリスロマイシン、ハイグロマイシン、ノーセオスリシンが増殖を阻害した。そこで選択マーカーとしてノーセオスリシン耐性遺伝子 (*nat*) を用いて発現ベクターを構築した。その結果、選抜したプロモーターを用いることにより、10⁸ 細胞あたり約 450 の形質転換体という高い効率で形質転換体を得られるようになった。硝酸還元酵素の誘導型プロモーターを用いた場合には、硝酸塩の代わりにアンモニウム塩を含む培地で培養することで導入遺伝子の発現を抑え、特定の時期に硝酸塩を添加することにより、その発現を誘導できることを認めた。これによって導入遺伝子の発現時期の調節や最適化を行うことが可能となった。本形質転換系により、リシノール酸など、本来珪藻が生産しない有用物質生産能をツノケイソウに付与することができた。以上の結果から、ツノケイソウ (*Chaetoceros gracilis*) が、バイオフィクトリーとして有用であることが示された。

diatom, transformation, biofactory

発表責任者：伊福 健太郎 (ifuku@kais.kyoto-u.ac.jp)