

# 高濃度グリセロール資化性新奇スラウストキトリッドの培養特性

藤本彩乃、長友宏子、松田綾子、田岡洋介、末永智幸、林雅弘(宮崎大・農)

## 1. INTRODUCTION

バイオディーゼル燃料生産廃液からの多価不飽和脂肪酸(PUFA)の微生物生産に適した高濃度グリセロール資化性新奇スラウストキトリッドを分離した。本研究では、炭素源資化性と培養条件が脂質組成や増殖に及ぼす影響を検討した。

## 2. MATERIALS AND METHOD

スラウストキトリッドの分離源として長崎県と沖縄県石垣島沿岸および海底より、マングローブの落葉、沿岸海水、砂、サンゴ片などを採集した。これらの分離源から、グリセロールを唯一の炭素源とする培地を用いて松花粉釣餌法により新奇スラウストキトリッドを分離した。分離に使用した培地は炭素源として10%のグリセロール、硝酸カリウム、 $K_2HPO_4$ 、 $KH_2PO_4$ 、ビタミン混合物、金属イオン混合物を含む50%濃度人工海水(pH-7.0)を用いた。コロニーの出現後、同培地で分離株を純化した。

それらの総脂質をメチル化した後、脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーにより分析した。分離株の同定のため、18S rRNA 遺伝子配列の系統解析も行った。

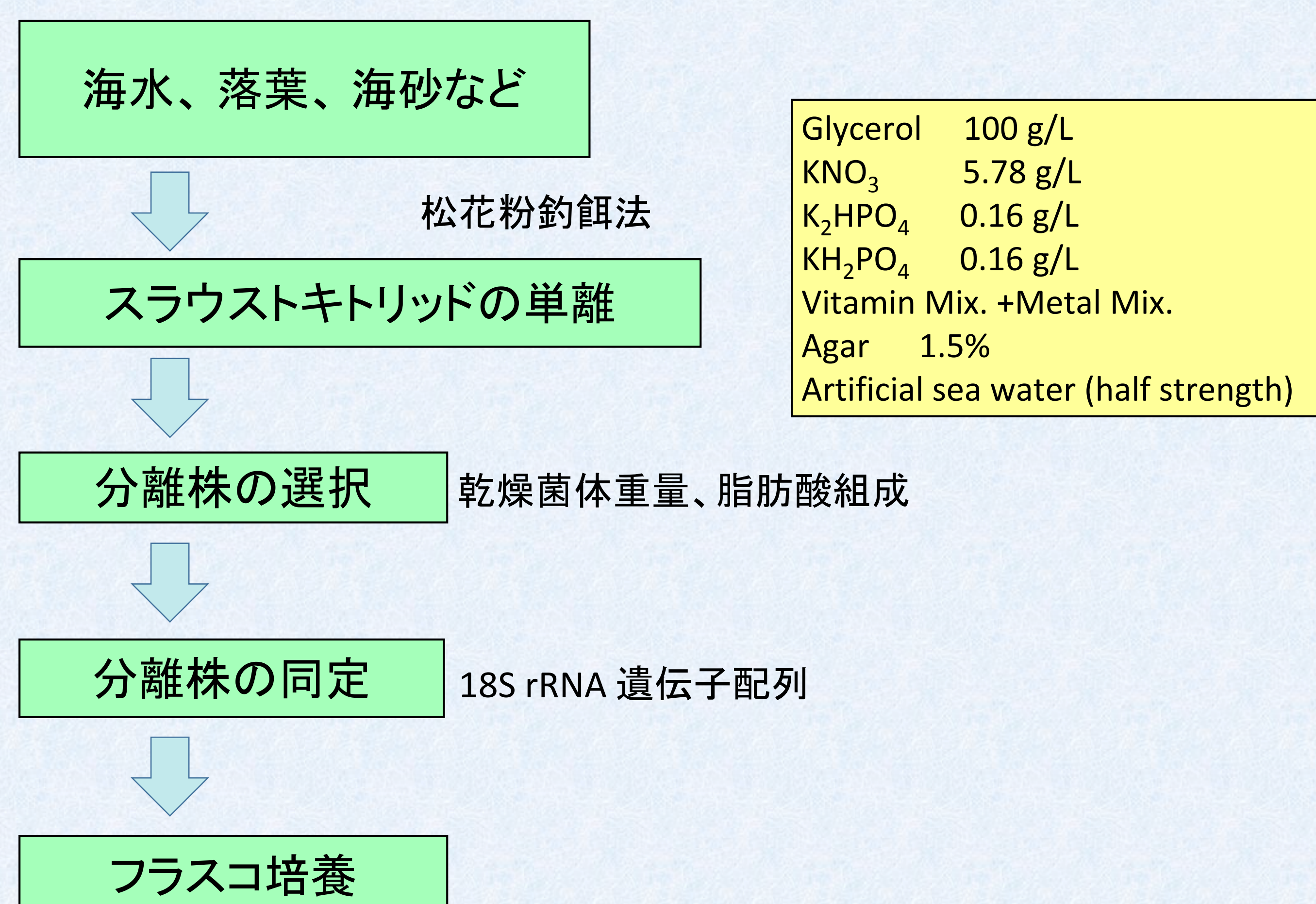


Fig. 1 グリセロール資化性新奇スラウストキトリッド選別の流れ

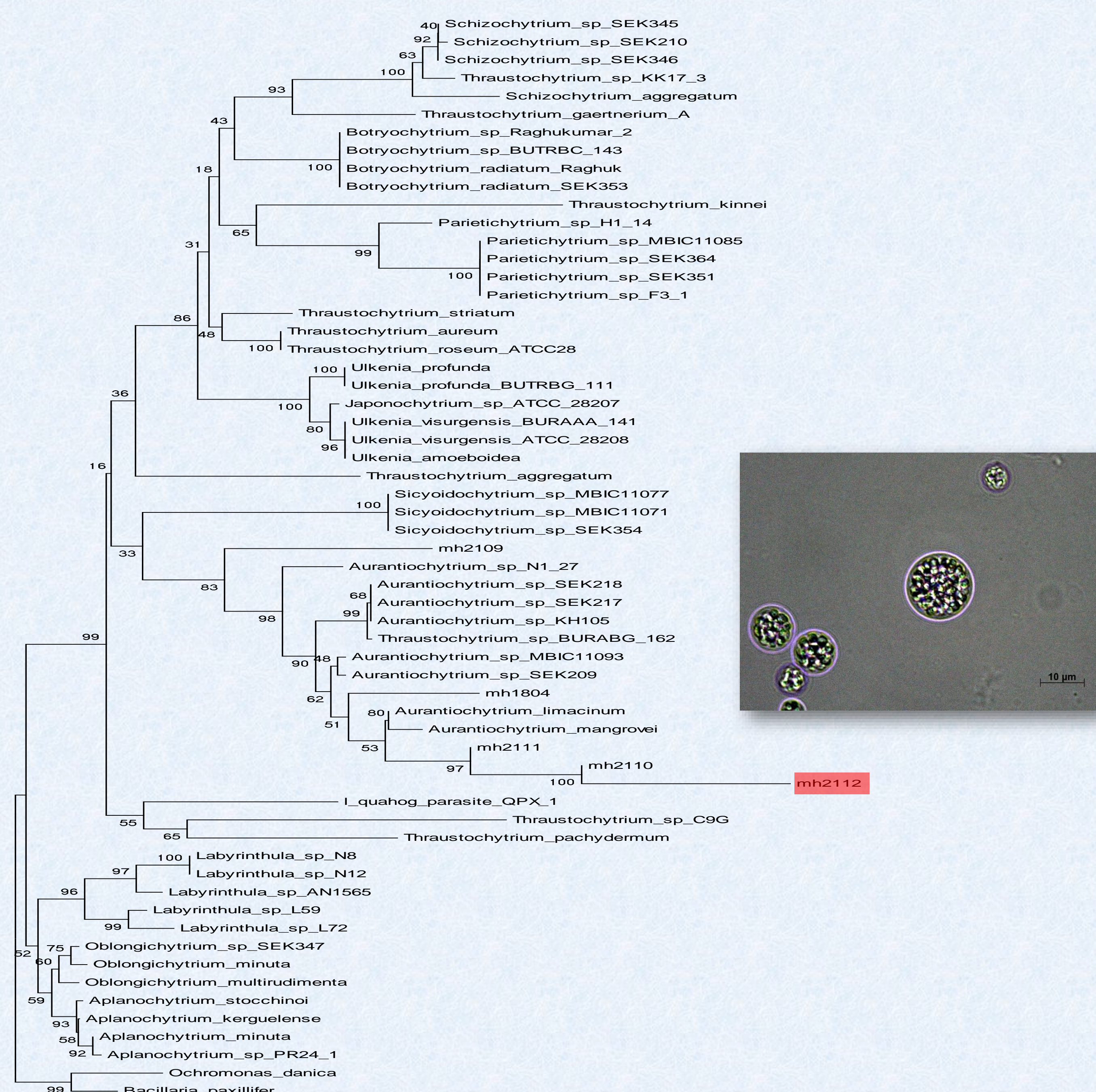


Fig. 2 *Aurantiochytrium* sp. mh2112株の系統解析

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

スクリーニングの結果、採集した海水や砂から10%グリセロールを含む培地で増殖可能なスラウストキトリッドを5株分離した。これらの株は細胞内に著量のドコサヘキサエン酸(n-3 DHA)やドコサペンタエン酸(n-6 DPA)などのPUFAを含有していた。

本研究ではさらに、温度、pH、海水濃度などの培養条件が脂肪酸組成、増殖性に及ぼす影響も検討した。

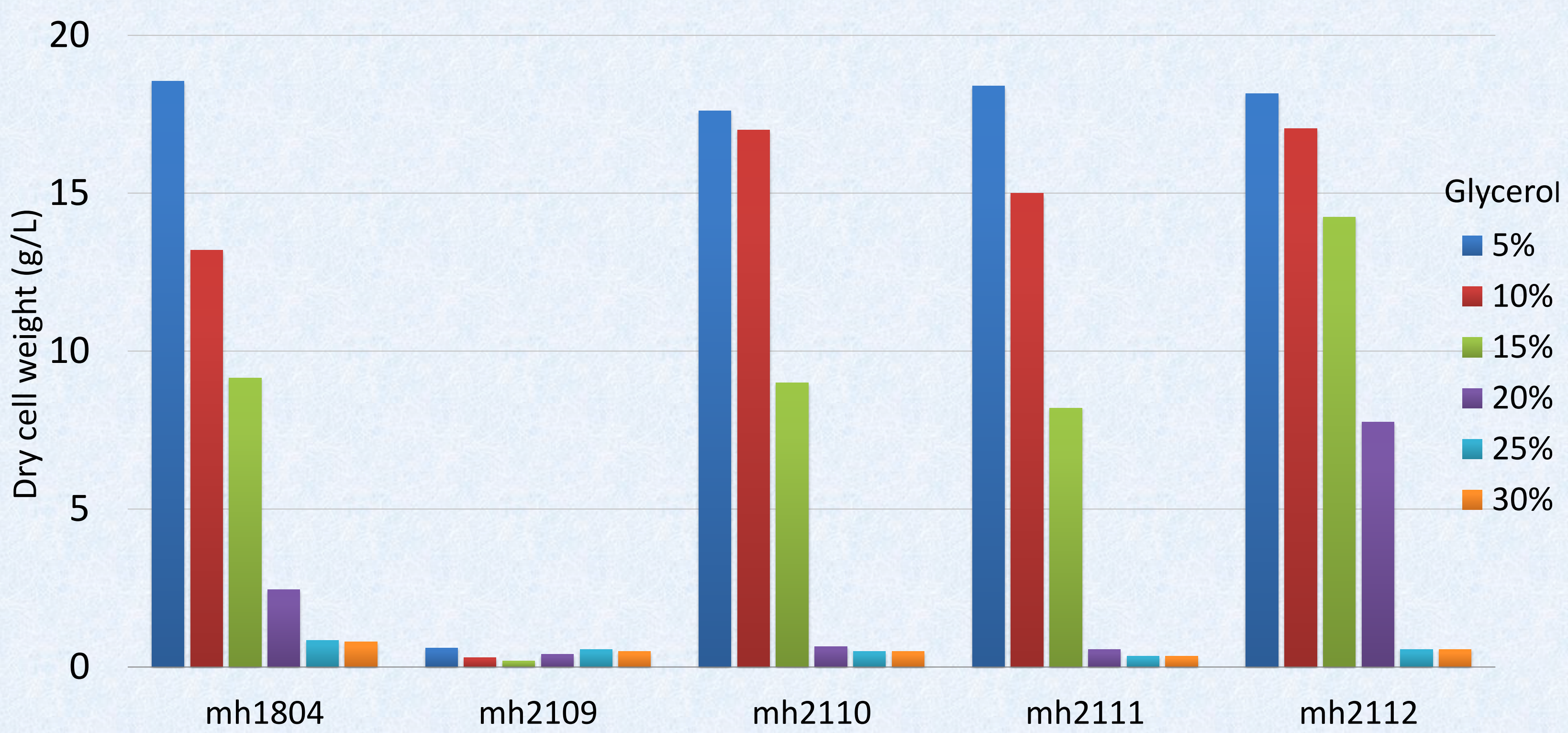


Fig. 3 分離株5株におけるグリセロール濃度別培地での増殖量

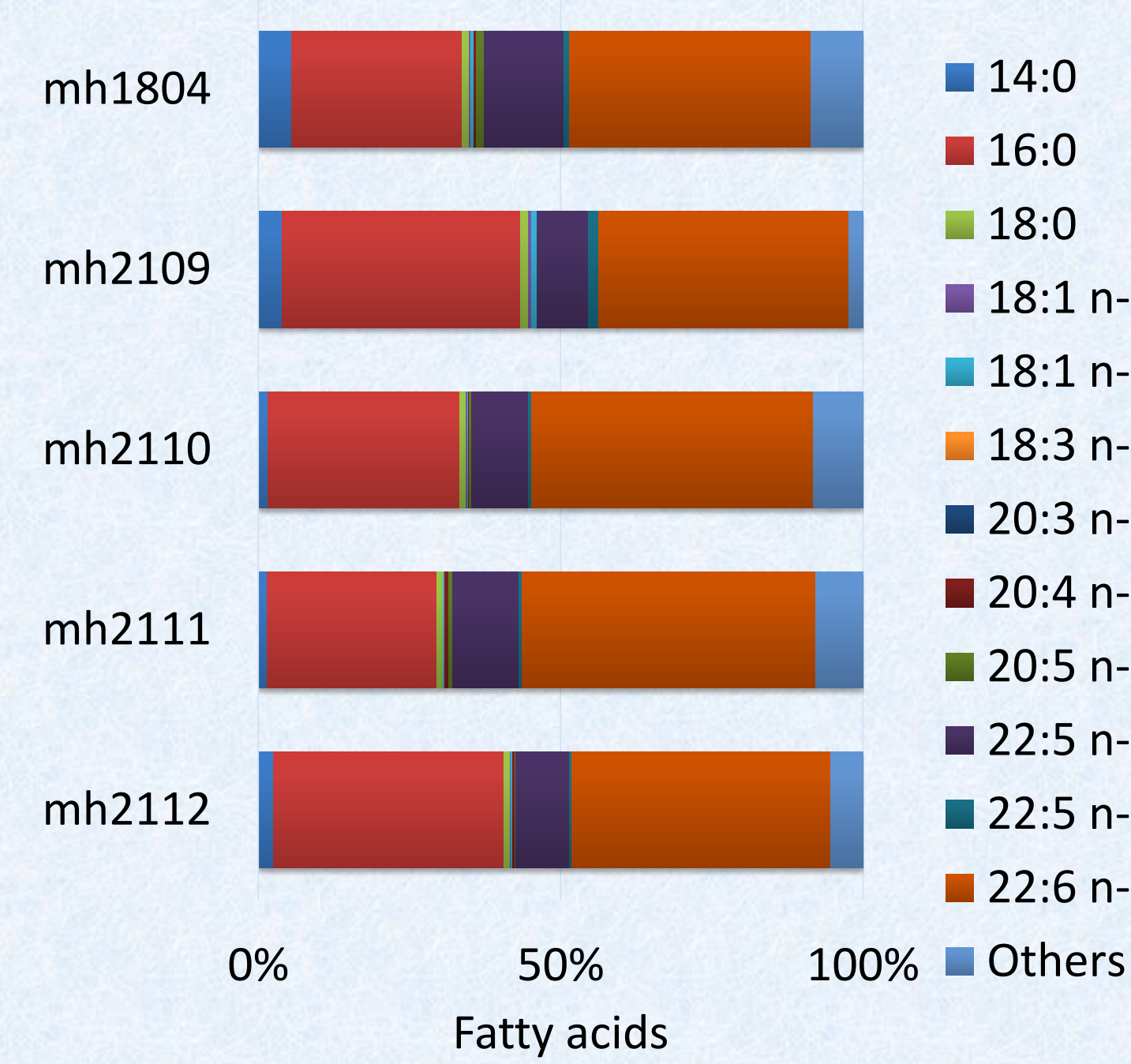


Fig. 4 分離株5株の脂肪酸組成

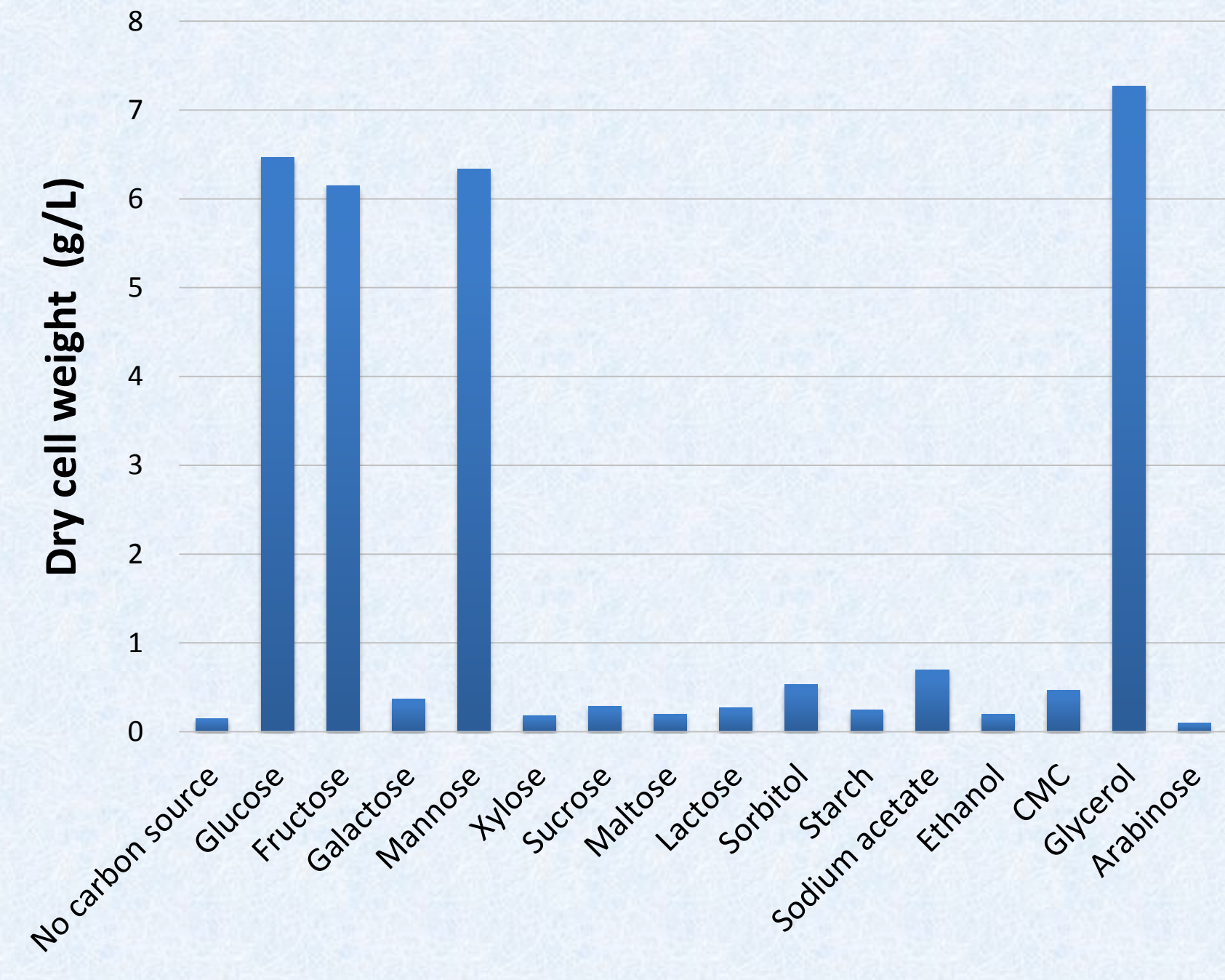


Fig. 5 mh2112株の増殖量における炭素源の影響

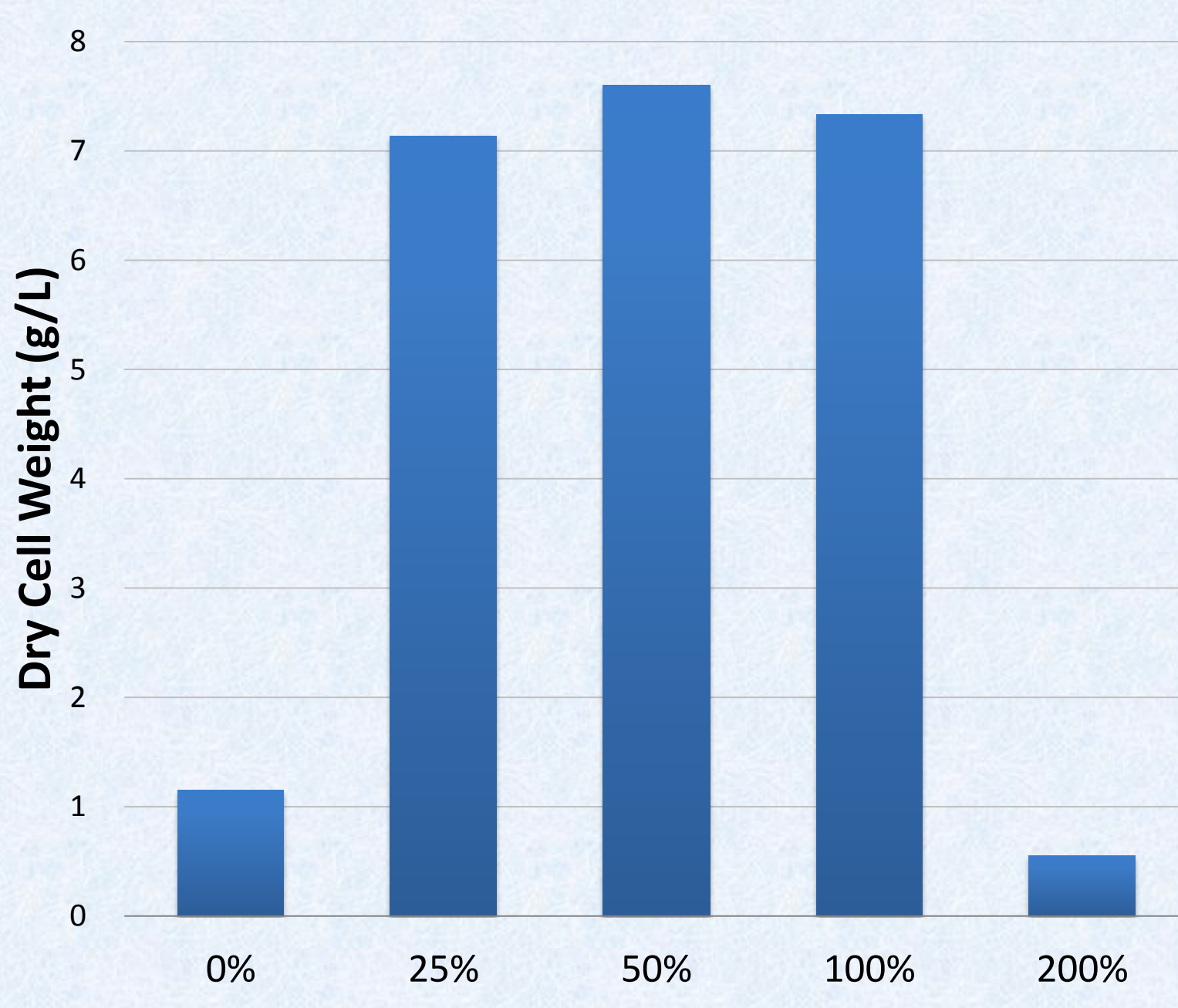


Fig. 6 mh2112株の増殖量における海水濃度の影響

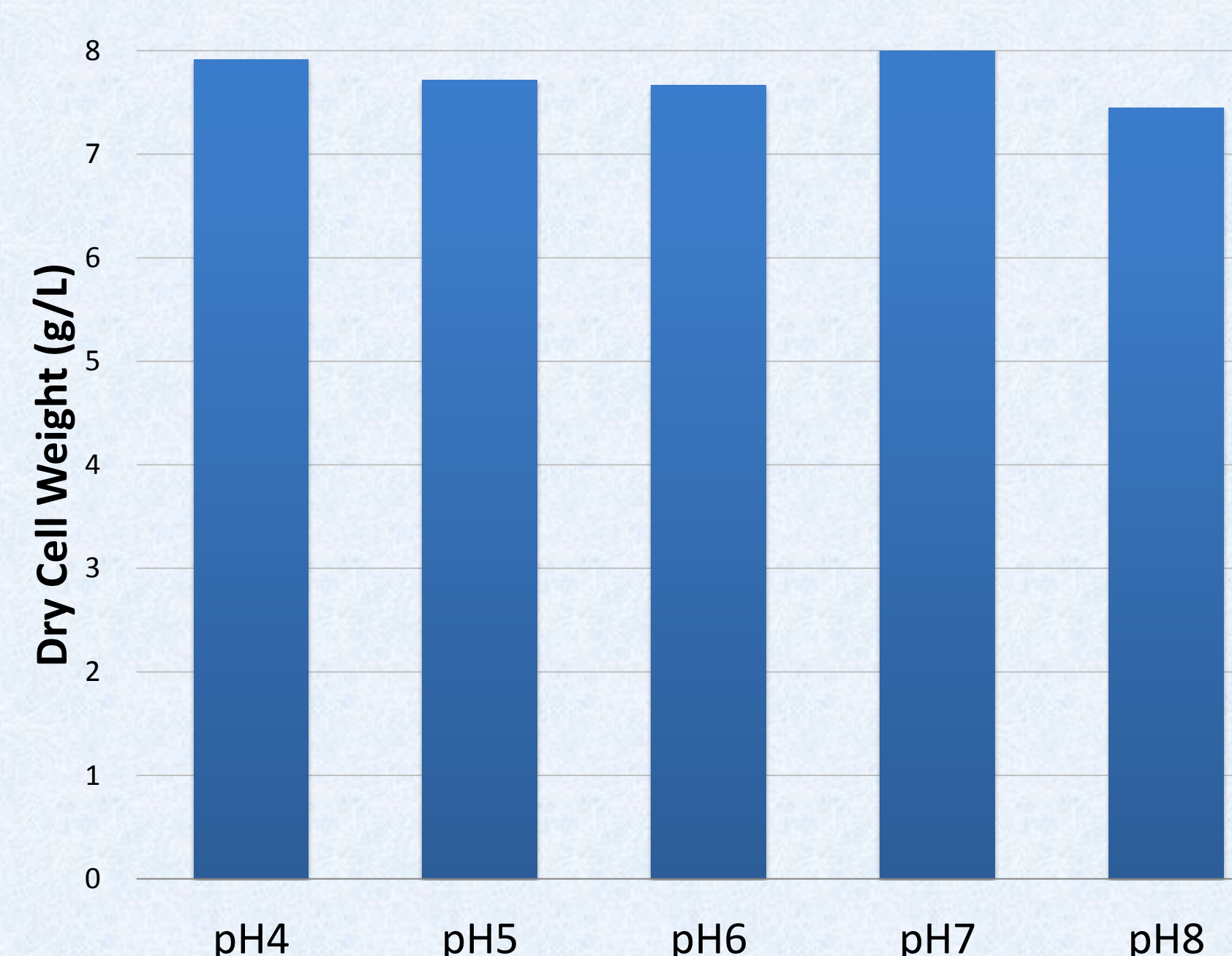


Fig. 7 mh2112株の増殖量におけるpHの影響

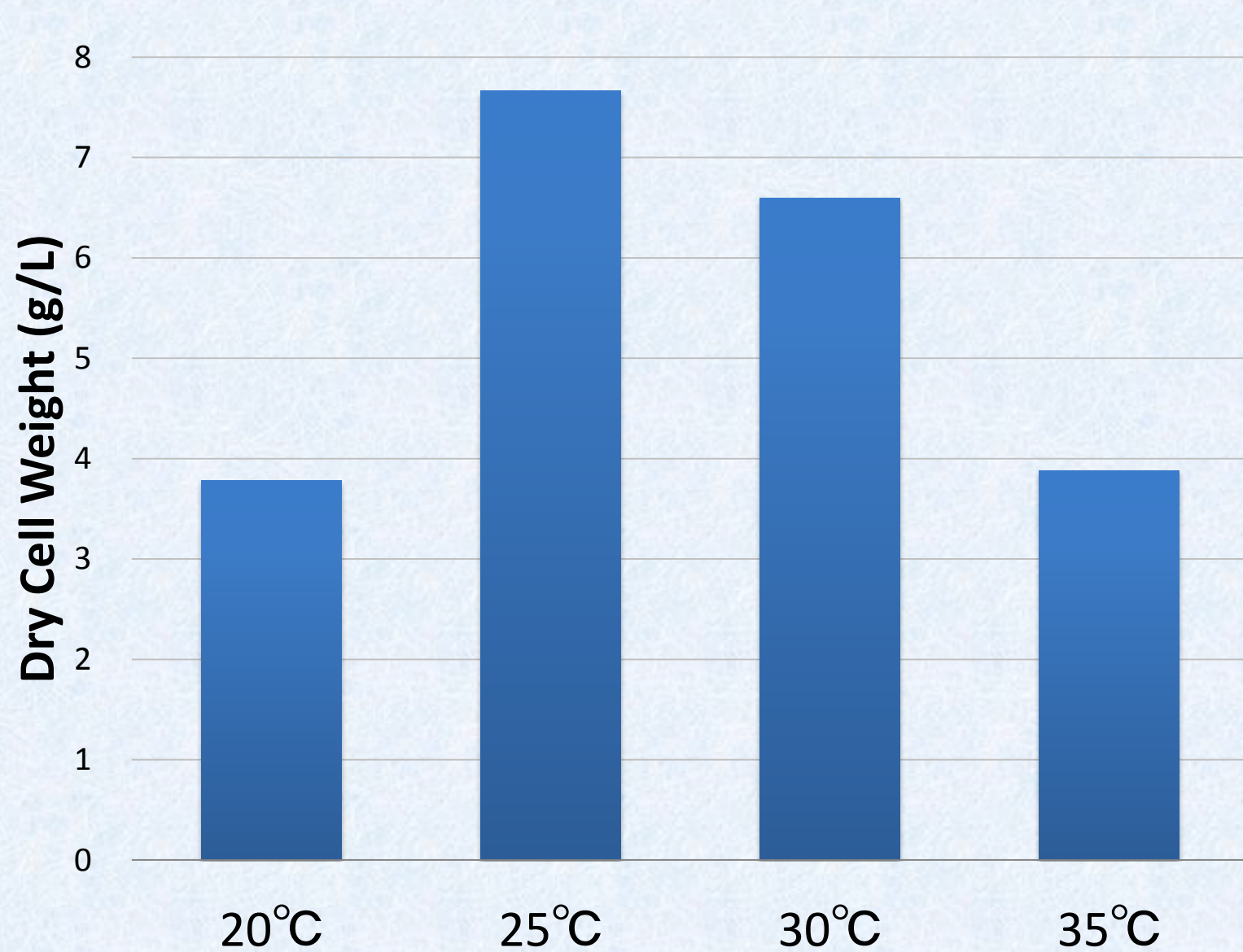


Fig. 8 mh2112株の増殖量における温度の影響

mh2112株で培養条件の検討を行ったところ、グリセロール以外のグルコース、フルクトース、マンノースを炭素源として使用した培地でも増殖することが確認された。25%~100%の海水濃度の培地では同程度増殖し、pH4~pH8の培地でも大きな差はなかった。培養温度は、25°Cの試験区で培養したものが最もよく成長した。

本研究の一部は栗田工業(株)との共同研究において実施した。