

Title	Chlorella sp.の種内および種間における電気的細胞融合
Author(s)	中村, 大助; 大城, 宜子; 宮里, 和朋; 稲福, 桂一郎; 比嘉, 永彦; 緑川, 義行
Citation	南方資源利用技術研究会 研究発表会・特別講演会 (H12): 7-7
Issue Date	2000-12-02
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12001/15950
Rights	南方資源利用技術研究会

Chlorella sp.の種内および種間における電氣的細胞融合

○中村大助、大城宜子、宮里和朋*¹、稻福桂一郎*¹、比嘉永彦*²、緑川義行

(財)南西地域産業活性化センター、*¹(株)沖縄発酵化学、*²沖縄県酒造協同組合

【目的】新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の委託研究として平成2年度から平成11年度まで「細菌・藻類等利用二酸化炭素固定化・有効利用技術研究開発」(生物的CO₂固定化プロジェクト)が(財)地球環境産業技術研究機構(RITE)により実施された。このプロジェクトでは、光合成を高効率に行う微生物などを自然界から探索し、効率よく光合成を行う生育環境条件を人工的に実現し、工業的な大量培養によって自然界以上の効率でCO₂を固定させることを目的としていた。このプロジェクトにおいて、自然界から高効率CO₂固定能株である *Chlorella* sp. UK001 株が探索された。*Chlorella* sp.は緑藻類に属し、無性生殖を行うので一般的な育種法を用いることは困難である。細胞融合法は自然界では交配し得ない生物種どうしを融合させることが可能であるので、*Chlorella* sp.の育種には適した方法であると言える。そこでUK001株に有用物質生産能などを付与させる育種改良を目的として細胞融合法を採り上げ、その条件設定等を確定し *Chlorella* sp.における電氣的細胞融合法の確立を目指した。

【方法および結果】 まず、電氣的細胞融合に関する様々な条件設定を確定するために、UK001株と極めて近い種であり、*Chlorella* sp.の研究においては一般的に用いられている *C. vulgaris* UTEX259株より作出した2種類の栄養要求性変異株を用いて、プロトプラスト化から電氣的細胞融合までの条件を決定した。その結果、16時間明期・8時間暗期の同調培養において、明暗周期における酵素処理開始時間がプロトプラスト化率に影響を与えることが強く示唆された。ここで得られた条件を用いてUTEX259における種内細胞融合を行った結果、再現性良く融合細胞と判断された細胞が得られた。ここで得られて条件に若干の変更を加えUTEX1230とUK001の栄養要求性変異株を用いた種間細胞融合を行ったところ、多数のコロニーが形成された。これらのうち多くの系統は数代の継代培養において栄養要求性を示したが、いくつかの系統は数代の継代培養において栄養要求性を示すことはなかった。このことからこれらの系統は融合細胞であると判断した。また、得られた融合細胞について、16SrRNA遺伝子の違いを用いたPCR法によるUTEX1230株とUK001株の判別方法を適用したところ、UTEX1230株およびUK001株両方の16SrRNA遺伝子を持った融合細胞が得られた。このように継代培養による融合細胞の確認に加え、遺伝子レベルにおける融合細胞の確認においても、種間細胞融合における融合細胞であるという確証が得られたことから、今回確立した電氣的細胞融合法は *Chlorella* sp.の細胞融合法として極めて有効な方法であると言えよう。