

オーランチオキトリウムの科学

吉田 昌樹

オーランチオキトリウムという名前がマスコミに登場し、一般に知られるようになったのは2010年の末頃だろうか。スクアレン産生株が「石油を作る藻類」として紹介され、それまでよりは一躍有名になったものの、名前が覚えにくいいためかマイナー生物の域を出ない。「従属栄養性藻類」や「ヤブレッツボカビ類」といった、およそ当業者しか知り得ぬ生物群の中では破格の出世を遂げたにもかかわらず、である。顕微鏡を使わないと認識できない微細生物ということも、知名度の向上には不利であろう。

オーランチオキトリウム (*Aurantiochytrium*) という名称は2007年に登場した¹⁾。分類学的には比較的新しい生物名である。一方、生物の実体としては従来、シゾキトリウム (*Schizochytrium*) と呼ばれていた一群から分離・命名されたもので、シゾキトリウム時代を含めれば研究の歴史は長い。特にオーランチオキトリウムを含むヤブレッツボカビ類は、DHAやEPAといった高度不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids; PUFAs) の生産能力が高く、これに着目した研究が数多くなされてきた。PUFAsの生産に関しては、宮崎大学の林先生による本誌記事^{2,3)}に詳しい。本項ではオーランチオキトリウム属に焦点を絞り、名称から細胞の形態、本属の特徴である炭化水素の蓄積など、応用的側面からは見過ごされがちな話題も交えつつ紹介しようと思う。

覚えにくい名前

オーランチオキトリウム (*Aurantiochytrium*) という長い名前にはどのような意味があるのだろうか。本語は「オーランチオ」+「キトリウム」という二語から成っており、それぞれ原型は“*aurantius*”と“*chytrion*”である。“*aurantius*”は「オレンジ色の」という意味のラテン語である。ルネッサンス以降に導入された新ラテン語であり、主に学術用語として使われる。実はオーランチオキトリウムの他にもミカン亜科 (*Aurantioideae*)、ダイダイ (*Citrus aurantium*)、オレンジハタオリ (*Plouces aurantius*)、キハダトミガイ (*Polinices aurantius*) などさまざまなオレンジ色の生物の学名や分類階級名にも使

われているのだが、これらの生物は別途和名を持つために学名が表に出る機会は少ない。

後半の“*chytrion*”は「小さな壺」の意味を持つ、ギリシャ語由来のラテン語である。元々この語は壺型の遊走子嚢を形成するツボカビ類の属名に好んで使われてきた。ヤブレッツボカビ類も、真菌であるツボカビ類と分類上混同されてきた経緯があり⁴⁾、属名の語尾を共有する。

以上のように「オーランチオキトリウム」は学名としてはシンプルな成り立ちだが、広く憶えてもらうには少し長い。通りの良い和名があれば良いのだがオーランチオキトリウムにはまだない。藻類の場合、魚類や爬虫類、両生類などとは異なり、管轄の学会に検討や選定を司る委員会が存在しないので、和名は言った者勝ちである。ぜひ魅力的で覚えやすい和名を提案していただきたい。

細胞の形態と特徴

ヤブレッツボカビ類にも壺型の遊走子嚢を形成するものがあるが、オーランチオキトリウムは球形の栄養細胞が二分裂を繰り返して遊走細胞塊を作る (図1)。

遊走細胞の形成は新しい培地に植え継いだ時など、環境の変化に伴って起こる場合が多い。寒天培地のような固形の基物に付着した際、*A. limacinum*では名前の通り

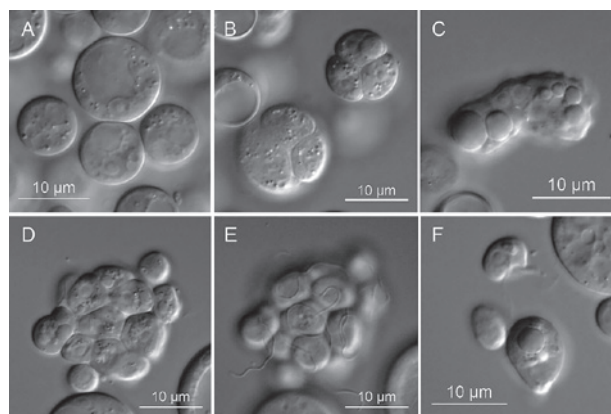


図1. *Aurantiochytrium limacinum* 4W-1b株の細胞形態。A：球形の栄養細胞，B：四分細胞，C：アメーバ状細胞，DE：遊走細胞塊，F：遊走細胞。

アメーバ状の細胞を生じる (“*limacinum*” = ナメクジ型の)⁵⁾。アメーバ状細胞は基物上を這いずって移動することができるため、*A. limacinum*は寒天培地におけるコロニーの拡大が迅速である。もう一種、オーランチオキトリウム属には*A. mangrovei*が記載されている⁶⁾。*A. mangrovei*はアメーバ状細胞を形成しないがカロテノイドの含有量が高く、コロニーや培養液がオレンジ色を呈する株が多い⁷⁾。後述するスクアレン産生株^{8,9)}も*A. mangrovei*であり、この系統と*A. limacinum*とでは、アメーバ状細胞の有無以外にもテルペノイドの合成系に何らかの違いがあるようである。

好適な条件下では、オーランチオキトリウムは球形の栄養細胞(図2)が二分裂を繰り返して増殖する。栄養細胞は鞭毛を失っているが、細胞の内部には基底小体や鞭毛根から成る鞭毛装置が保存されている。鞭毛装置やゴルジ体は細胞核の近傍に存在し、時々出現する多核の細胞ではこれらの小器官も複数セットが存在する。富栄養の培養条件下では油滴(図3)が発達するが、筆者の経験では天然で採集された細胞に大きな油滴を認めたこ

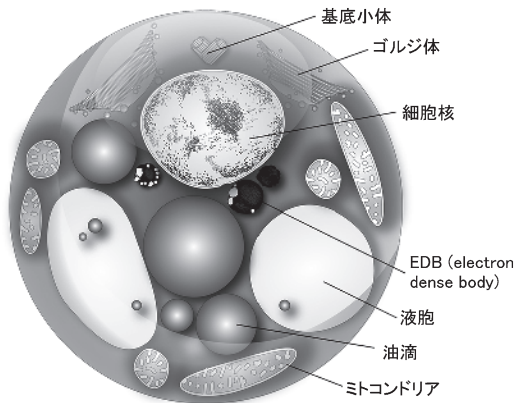


図2. オーランチオキトリウム栄養細胞の模式図。栄養細胞には鞭毛はないが、基底小体は保存されている。富栄養条件下では油滴も発達する。

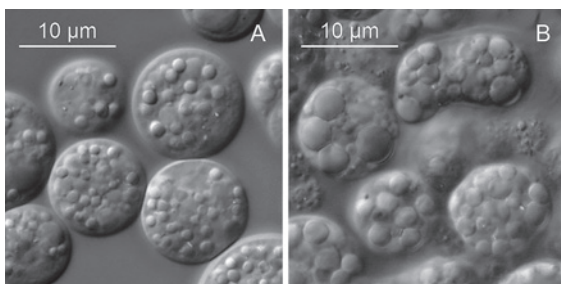


図3. 脂質を蓄積した*Aurantiochytrium limacinum* 4W-1b株(A)、同NIES-3737株(B)。細胞内に多数の油滴が発達している。

とはない。図3のような細胞は高い脂質含量を誇るが、いわばフォアグラを採るためのガチョウのような、生物としては不自然かつ不健康な状態である。

オーランチオキトリウムを増やす

オーランチオキトリウムの培養には一般的なGTY(G:グルコース, T:トリプトン, Y:酵母抽出物)培地に海水を加えたものが利用できる。ヤブレッツボカビ類ではPUFAsの高生産やコスト削減を目的としてさまざまな培地が開発されており、基本的な培養法は確立されている¹⁰⁾。オーランチオキトリウム、特に*A. limacinum*は増殖が速く、培養は楽である。温度25°C前後、振とうによる攪拌もしくは通気により酸素を供給すれば数時間で倍加する¹¹⁾。

時々高校生や指導の先生方から、授業や部活動でオーランチオキトリウムを培養したいがどうしたらよいか、という質問を頂く。培養条件は上記の通り特殊なものではないのだが、多くの高校の設備では無菌の維持と培地の作製が問題となる。クリーンベンチがなければ、無菌作業は定石通りガスバーナーの周囲、上昇気流で防塵された範囲で行う。培地について、トリプトンのような試薬級のタンパク質加水分解物や酵母抽出物は高価であるが、これらはベジマイト(VEGEMITE)のような市販の酵母加工品でもある程度代用できる。ベジマイトには酵母の細胞壁が残っているの、水に溶いた後にろ過して使う。また食用の加工品には塩分が多く含まれるので、それらを使った場合には海水の濃度を加減する。培養株については株保存施設から分譲を受けてもよいが、当研究室でも培養しやすい株を教育用株として維持しており、希望に応じて適宜分譲している。

スクアレンはどこにある?

オーランチオキトリウムが世に知られる契機となったのは、冒頭で述べた通りスクアレン産生株である18W-13a株の発見である^{8,9,12)}。株の増殖特性やスクアレン生産性といった数字は当然重要なのだが、個人的には本株について形態学的に気になることがあった。それはスクアレンが細胞内のどこに蓄積されているのか、ということである。一般にトリアシルグリセロール(triacylglycerol, TAG)は貯蔵脂質として、細胞内の油滴と呼ばれる区画に蓄積される^{13,14)}。一方でスクアレンはステロール合成の前駆体として常に代謝されており^{15,16)}、一部の生物の肝臓や脂肪種子などを除いては、大量に蓄積されることはない。組織分化のない単細胞生物で、TAGとスクアレンとがどのように分別され、あ

るいは共局在しているのかに興味を持ったのである。

しかしながら、TAGとスクアレンはいずれも低極性の脂質であり、ナイルレッドのようなソルバトクロミズムを示す色素を以てしても、顕微鏡下 *in situ* での識別は容易ではない。幸いなことに学内にはラマン分光分析のスペシャリストがおり、同じ保育所に子を送迎する親同士という奇縁と熱心な大学院生にも恵まれ、オーランチオキトリウムのコヒーレント・ラマン・イメージングが実現した¹⁷⁾。

光と物質との相互作用としてさまざまな散乱があるが、その一つがコヒーレント・アンチストークス・ラマン散乱 (coherent anti-Stokes Raman scattering; CARS) である。CARSは二種類の光によって引き起こされる非線形光学現象である。物質に波長の異なる二種類の光が当たった時、二つの光の角振動数差が物質内分子の分子振動の角振動数に一致すると、これが励振される。励振された分子振動が再び照射光と相互作用することにより、CARS光が発生する。このCARS光を検出することで、物質内の特定の分子構造の存在を知ることができる。たとえばスクアレンは分子内に6つのメチル基を持つため、CH₃対称伸縮振動が強く現れる。一方TAGは、炭化水素であるスクアレンには存在しないエステル結合を含むため、これのC=O伸縮振動によりスクアレンと区別できる。

イメージングの結果、TAGは図4下段の像が示す通り、細胞質の油滴に存在していた。一方、スクアレンは培養72時間前後で急激に蓄積が進み、しかもその局在は図4中段の通り液胞に限られていた。PUFAsを結合した

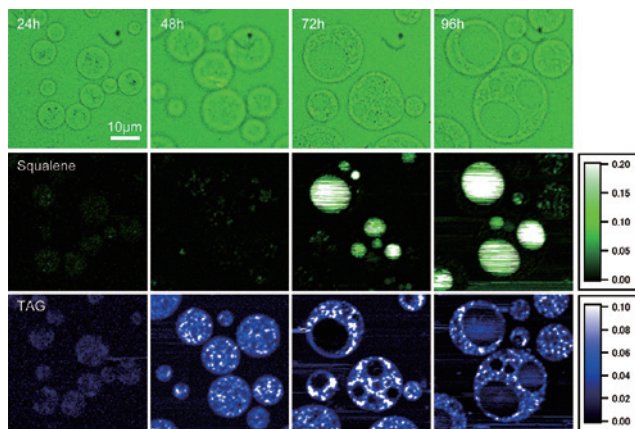


図4. *Aurantiochytrium mangrovei* 13W-13a株の時系列コヒーレント・ラマン・イメージング像。左列より培養開始後24・48・72・96時間目、上段より明視野像・スクアレン局在(緑色擬似カラー)・TAG局在(青色擬似カラー)。スクアレンについては、油滴が液胞内で掃引されているため、シグナル量は油滴の存在量を反映しない。文献17より許可を得て転載。

TAGと、炭化水素であるスクアレンとは、オーランチオキトリウムの細胞内でまったく異なる細胞内区画に局在していたのである。

なぜ大量のスクアレンが液胞内に存在するのかは定かでない。ステロール合成が液胞で行われるとは考えにくい。おそらく、ステロール合成に必要な微量のスクアレンは細胞質に存在し、過剰分が液胞に送り込まれてオートファジーを受けるのではないかと推測する。

オーランチオキトリウムを食べる

PUFAsやスクアレンなど、食品としても魅力的な成分を含むオーランチオキトリウムを食べることはできないのか。筆者は自分で培養したものを味見したことがあるが、生細胞のペレットは魚臭と塩味のある油粘土のようであり、お世辞にも美味とは言えなかった。乾燥藻体も魚っぽい芳香を放つが、鰹節や煮干しなどの乾燥魚介類に馴染みのある日本食の文化圏では、それほど忌避されない風味であろう。また脱脂・乾燥した藻体の風味は乾燥スルメイカに近く、今のところもっとも抵抗なく口にできるレシピである。

オーランチオキトリウムが食品として認識される日は(来るとしても)しばらく先であろうが、食品の食品、つまり畜産飼料や養魚飼料としての利用については研究開発が進められている(図5)。たとえばスクアレン産生株をマダイやクルマエビの飼料に配合すると、これら魚介類のスクアレン含量を向上させることが可能である¹⁸⁾。

オーランチオキトリウムは、海産魚介類の生育に必須であるDHAの供給源としても有望である。現在、養魚飼料のDHAは魚油由来のものがほとんどであるが、これをオーランチオキトリウムで代替する研究が内閣府主導の戦略的イノベーション創造プログラム(Cross-ministerial Strategic Innovation Promotion Program, SIP)の中で進められている¹⁹⁾。オーランチオキトリウムDHAの利用により、飼料の天然資源への依存度が下がり、養殖産業の安定性と持続性に寄与することが期待される。

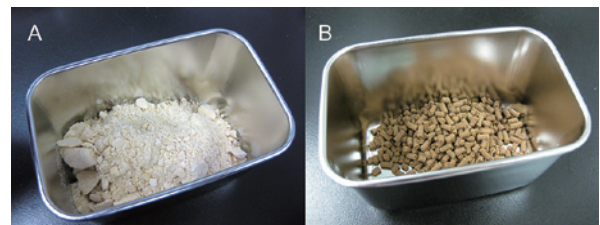


図5. オーランチオキトリウムの乾燥藻体(A)と、乾燥藻体を配合した養魚飼料(B)。

おわりに

「石油を作る」オーランチオキトリウムは、バイオ燃料以外にもさまざまな利用可能性を秘めた生物である。真核生物トップクラスの増殖速度は、モデル生物の座すら狙えるものである(と筆者は考える)。あるいは独特の風味に惹かれ、食品化に邁進する人が現れるかもしれない。まずは培養してみませんか。

文 献

- 1) Yokoyama, R. and Honda, D.: *Mycoscience*, **48**, 199 (2007).
- 2) 林 雅弘: *生物工程*, **91**, 621 (2013).
- 3) 林 雅弘: *生物工程*, **93**, 426 (2013).
- 4) Cavalier-Smith, T. *et al.*: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **339**, 139 (1994).
- 5) Honda, D. *et al.*: *Mycol. Res.*, **102**, 439 (1998).
- 6) Raghu-Kumar, S.: *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **90**, 627 (1988).
- 7) Nakazawa, A. *et al.*: *J. Appl. Phycol.*, **26**, 29 (2013).
- 8) Kaya, K. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 2246 (2011).
- 9) Nakazawa, A. *et al.*: *Bioresour. Technol.*, **109**, 287 (2012).
- 10) 製品評価技術基盤機構DHAやEPAの生産菌として知られるラビリンチュラ類: <http://www.nite.go.jp/nbrc/cultures/nbrc/use/labyrinthulea.html> (2017/8/10).
- 11) Nakazawa, A. *et al.*: *Procedia Environ. Sci.*, **15**, 27 (2012).
- 12) 吉田昌樹: *海洋と生物*, **38**, 46 (2016).
- 13) Martin, S. and Parton, R. G.: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 373 (2006).
- 14) Murphy, D. J.: *Protoplasma*, **249**, 541 (2012).
- 15) Nes, W. D.: *Chem. Rev.*, **111**, 6423 (2011).
- 16) Hannich, J. T. *et al.*: *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **3**, a004762 (2011).
- 17) Ishitsuka, K. *et al.*: *J. Raman Spectrosc.*, (2016) DOI:10.1002/jrs.4979.
- 18) 特願2015-205410
- 19) 戦略的イノベーション創造プログラム (SIP): <http://www8.cao.go.jp/cstp/gaiyo/sip/> (2017/8/15).