

図2 農大前の真夏のアスファルトから単離した真核の微細藻類Ki-4株の顕微鏡写真。農大の電子顕微鏡室で詳細な表面構造の撮影に成功した。

自然界で引き起こされる極限環境ストレスを実験室で実現することを目的として2004年から堀谷かおるさんや宮嶋良輔君が卒論研究を行った。寒天培地を切り取り、空のシャーレへ移植することで、強光下で1週間かけて徐々に乾燥する条件が確立された。砂漠や日本の過酷な環境から学生と単離した微細藻類は現在70株ほどになり、ほぼ全てが真核の微細藻類に分類される。中でもKi-4株は特に環境ストレス耐性が強く、強光下の水分がゼロの環境で6カ月以上生存し(図3A)、かつ海水塩濃度の2倍程度の塩ストレス下でも生存した。クラミドモナスやクロレラなど一般の真核微細藻類は本条件下では1週間以内に白色化し、枯死する。遺伝子解析の結果、Ki-4株は2004年にLewisらにより報告された砂漠の真核藻類と近縁種であることが判明し、日本にも砂漠類似環境があることを結果的に証明するに至った。

## 橙色の水溶性タンパク質—AstaP

Ki-4株は一般の藻類と比較すると明らかに強い環境ストレス抵抗性を示したが、数年間の研究を経ても抵抗性の原因解明には至らなかった。2007年から清水宏文君、河野哲也君、三島直君らは二次元電気泳動解析を行いストレス応答性の複数のタンパク質を検出したが、タンパク質は化学修飾されており解析が困難だったことも一因としてあげられる。2010年から水口佳祐君や佐藤大君らが中心となり大量に細胞を培養し

て解析したところ、強光ストレス付与細胞の抽出液が橙色になる現象が見いだされた。橙色の色素は脂溶性のカロテノイドと推定されたが、水に溶けていたのである。以降、不思議な水溶性物質の解析に取り組んだ。水口君らは橙色物質の精製に成功し、結合色素はカロテノイドの一種であるアスタキサンチン(図3B)と同定され、新奇なタンパク質と推定されたことからAstaPと命名した。

人参のβカロテン(図3B)、トマトのリコピンなど、700種以上存在するカロテノイド研究の歴史は深く、AstaPの新奇性を確認するために学生と多くの本や論文を調査した。アスタキサンチンはエビやカニの甲羅、フラミンゴの羽などに含まれる脂溶性のカロテノイドで、生物に鮮やかな色調を与え、かつ日光から皮膚細胞を保護する役割がある。

アスタキサンチンはカロテノイドの中でも特に高い抗酸化力を持つことから、化粧品や機能性食品に幅広く利用されている。アスタキサンチンは上記の高等生物には合成能力がなく、真核の微細藻類が細胞内に油滴として蓄積するものがエサとして取り込まれ、食物連鎖を通じて生物間を循環する。

水溶性のカロテノイド結合タンパク質は原核生物のラン藻に分布することが知られていたが、アスタキサンチンを結合する報告例は無く、また真核の微細藻類や高等植物には分布しないと考えられていた。

研究の結果、AstaPはKi-4株がストレス環境に遭遇すると大量に合成され(図1B)、水溶液中で高い1重項酸素消去活性を示し、100℃で1時間の熱処理後も活性と水溶特性を失わない熱安定性を有していた。以上の結果から、AstaPはKi-4株の細胞を強光と活性酸素から保護する機能を持つタンパク質であることが推定された。現在はアスタキサンチンを水溶性にし、かつ大量生産が可能で安定な機能性素材としてAstaPの可能性を追求している。

Ki-4株はAstaP以外にもストレス応答性の機能未知タンパク質を数多く発現することから、ストレス耐性メカニズムの解明には、さらなる分子生物学的な解析が必要である。今後も研究室で保有する微細藻類のユニークな極限環境ストレス耐性機構の解明を目指して、学生と共に研究を進めていきたい。

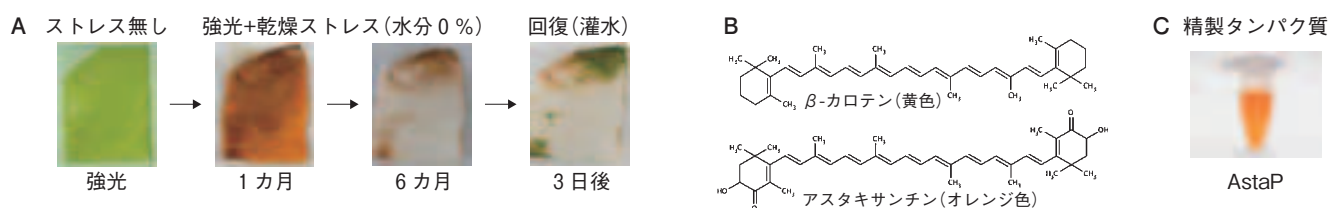


図3 A. Ki-4株を寒天培地上で培養し、強光+乾燥ストレスを付与した。ストレス耐性期間は細胞がオレンジ色に変色する。B. βカロテンとアスタキサンチン。共に油であり、水に不溶である。C. 精製後に超純水に溶けたアスタキサンチン結合タンパク質。