

D123

イオンビーム照射による白色腐朽菌の高性能化

(福井大工) ○(学) 瀨 由香菜・(正) 櫻井 明彦*・(正) 榊原 三樹男
(若狭湾エネ研) 畑下 昌範

【緒言】

近年、白色腐朽菌が分泌するリグニン分解酵素を用いた難分解性物質の処理やセルロース系バイオマスの前処理が期待されている。しかしながら、リグニン分解酵素の生産は、ラッカーゼ以外では工業レベルに達していない。また、マンガンペルオキシダーゼやリグニンペルオキシダーゼについては、遺伝子組換えによる高生産株の取得も成功していない。

このため、新たな高生産株の取得技術として、植物の育種などで実績が蓄積されつつあるイオンビームが期待されている。イオンビームとは、放射線の一種で水素イオンや炭素イオンなどの原子イオンを高速に加速したもので、最近では様々な分野での利用が検討されている。

本研究では、野生株の段階で高いマンガンペルオキシダーゼ (MnP) 活性を示す白色腐朽菌 L-25 株をイオンビーム照射によって育種し、実用レベルの高性能菌株を作製することを試みた。本発表では、変異に及ぼすイオンビームの照射条件 (イオン種、照射線量) について報告する。

【実験方法】

寒天プレート上で3日間培養した白色腐朽菌 L-25 株にイオンビームを照射した (Fig. 1)。イオン種としては、プロトン (H⁺) とカーボン (C⁺) を用い、最大照射線量は、それぞれ 3000Gy、2000Gy とした。照射後のプレートの中心から外縁部にかけて等間隔に 5 か所から菌糸を採取し、RBBR プレート (Potato Dextrose Broth, Remazol Brilliant Blue R 1g/L) に植菌した。これを暗所、30℃で培養した。MnP の分泌により RBBR が分解するため、分解に伴い形成されたハロー (青色が退色する) の程度により変異株の MnP 生産性を比較した。また、培養中の菌糸体の増殖直径とハローの直径を計測した。

【結果と考察】

現在まで、約 750 枚の RBBR プレートにイオンビームを照射した菌糸を植菌し、菌の生存と簡易的な MnP の生産性を比較してきた。菌の生存を培養 3 日目での菌糸の成長から確認したところ、照射線量が大きくなるにつれて生存率が低下し、プロトンビームでは 1500Gy 以上で、カーボンビームでは 500Gy 以上で死滅が始まること明らかとなった (Fig. 2)。また、プロトンビームでは 3000Gy まで照射した場合でも完全には死滅しないが、カーボンビームでは 2000Gy までに、ほぼ完全に死滅した。これらの結果より、カーボンビームの方がより大きなダメージを与えていると考えられる。さらに、菌糸の増殖への影響を菌糸の増殖直径の分散の値から評価したところ、プロトンでは 2000~3000Gy で、カーボンでは 1000~1500Gy で分散が大きくこの範囲で何らかの変異が起きている可能性が高い (Fig. 3)。

現在、液体振盪培養により MnP 高生産株のスクリーニングを行っている。

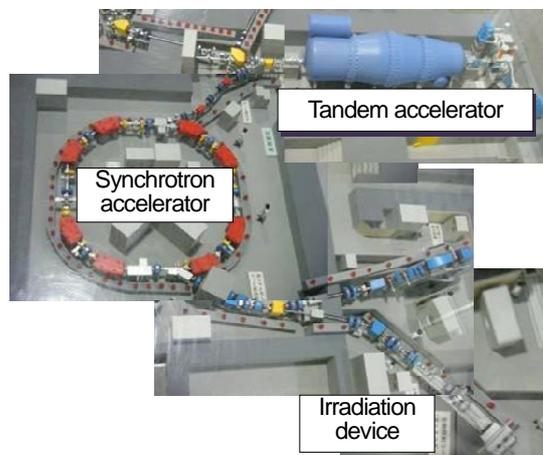


Fig. 1 Ion beam exposure system

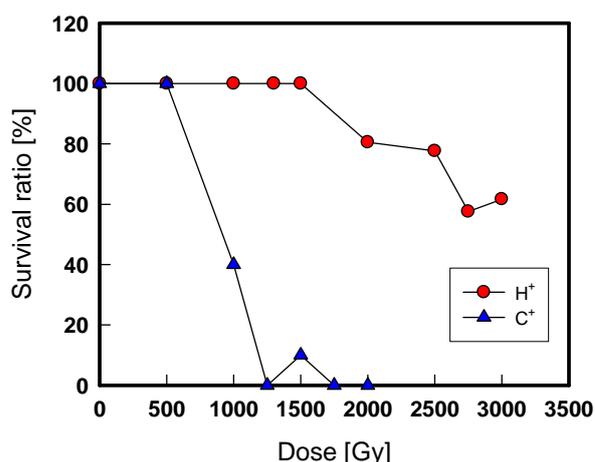


Fig. 2 Survival curves of strain L-25 by ion beam

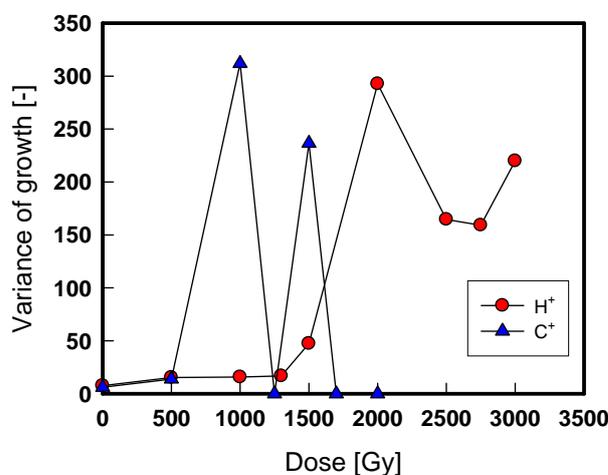


Fig. 3 Variance of mycelia growth

*Tel: 0776-27-8924, Fax: 0776-27-8747
E-mail: a_sakura@u-fukui.ac.jp