

## 好冷性南極産担子菌酵母 *Mrakia* sp. SK-4 の生物学的特徴

江崎絢香<sup>1</sup> 辻雅晴<sup>2</sup> 横田祐司<sup>2</sup> 星野保<sup>2,3</sup> 工藤栄<sup>4</sup>

<sup>1</sup>北海道ハイテクノロジー専門学校、<sup>2</sup>産業技術総合研究所、<sup>3</sup>北海道大学大学院・生命科学院、<sup>4</sup>国立極地研究所

### Biological characteristics of *Mrakia* sp. SK-4 strain from Antarctica

Ayaka Ezaki<sup>1</sup>, Masaharu Tsuji<sup>2</sup> Yuji Yokota<sup>2</sup>, Tamotsu Hoshino<sup>2,3</sup>, Sakae Kudoh<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hokkaido High-Technology College, <sup>2</sup>National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST),

<sup>3</sup>Graduate School of Science, Hokkaido Univ., <sup>4</sup>National Institute of Polar Research

Majority of microbes in Polar regions are psychrophile, and basidiomycetous yeast, *Mrakia* is one of them. These fungi were found from the Arctic, central Russia, European Alps and Antarctica. Microbes that live in cold environment such as Polar regions, can grow below 0°C, and they have major ecological role of decomposition of organic matters under cold climate. Shimohara *et al.* (2010) reported that *Mrakia* sp. SK-4 strain reduced biochemical oxygen demand (BOD) of milking parlor wastewater. Their study suggested that optimal cell growth of *M. sp.* SK-4 was 15°C, however optimal fat decomposition was observed at 10 °C. In this research, we aimed to elucidate in biological characteristics of *M. sp.* SK-4 according to molecular biological technique and physiological response to various cultural condition.

ITS and D1/D2 regions of *M. sp.* SK-4 had high homologies (>99%) with *Mrakia blollopis* CBS8912<sup>T</sup> strain, and consequently *M. sp.* SK-4 was identified as *M. blollopis*. However, *M. blollopis* SK-4 had different assimilations of lactose, arabinose and ethanol, growth on 50% glucose and vitamin free media from the literature of type strain of *M. blollopis* SK-4 strain could ferment typical saccharides without cellobiose but other *Mrakia* spp. were not reported such fermentabilities of various sugars. These physiological characteristics of *M. blollopis* SK-4 are closely related to decomposition of various saccharides in milking parlor wastewater under low temperature.

*M. blollopis* SK-4 was inoculated potato dextrose agar media then incubated at 4, 10 and 15°C. Cell morphology of fungal colony was almost yeast form at 4°C, and mycelia were found around yeast colonies increasing cultural temperature. We also inoculated *M. blollopis* SK-4 on agar media containing in fresh cream at above temperatures. Clear zone that was based on fat decomposition around yeast colonies were larger than those of mycelium. This results suggested that lipase secretion of *M. blollopis* SK-4 were different from their cell morphologies.

極地に生息する微生物の多くは好冷性微生物であり、担子菌酵母の *Mrakia* 属菌もその内の1つで、これまでに北極、シベリア、中央ロシア、アルプス山脈、南極大陸などから報告されている。極地のような低温環境に生息している微生物は氷点下でも成長が可能である。このため低温環境下で有機物の分解に大きな役割を果たしていると考えられている。下原(2010)は、酪農施設から排出されるパーラー排水に *Mrakia* sp. SK-4 株を添加することによって排水中の乳脂肪分を効率的に除去できることを示した。この研究を通じて、*M. sp.* SK-4 株の至適生育温度は 15°C であるのに対し、生クリームを含んだ寒天培地上(生クリーム培地)で培養すると、乳脂肪分が分解されることにより培地が半透明化するハローの形成は 10°C が最大であった。これら *M. sp.* SK-4 株の特性を評価するため、タイプ種との遺伝子配列の比較および培養条件の変化に対する応答を観測した。

菌類の分類に広く利用されている ITS 領域と、酵母の分類に利用されている D1/D2 領域の配列を利用し分子系統解析をした結果、*Mrakia blollopis* CBS8912<sup>T</sup> の配列と 99% 以上の相同性があることから *M. sp.* SK-4 株は *M. blollopis* と同種であるとした。しかし *M. blollopis* SK-4 では *M. blollopis* の文献値と比較して、ラクトース・アラビノース・エタノールの炭素化合物同化能および菌体を構成する脂肪酸組成が異なる他に、50% (w/v) グルコース培地・ビタミンフリー培地での生育に大きな違いがあることがわかった。

グルコース・スクロースなど代表的な糖類に対する発酵性を調べた結果 *M. blollopis* SK-4 株はセロビオースを除く全ての糖類で明確に発酵したのに対し、他の *Mrakia* 属菌ではこれほど多様な糖類に対する発酵能を持っていなかった。このことから低温で様々な糖類に対して発酵する能力を持っている *M. blollopis* SK-4 株は低温発酵で排水に含まれる様々な糖類の分解に利用できる可能性があるのではないかと思われる。

*M. blollopis* SK-4 株をポテトデキストロース寒天培地に移植して 4°C、10°C、15°C の 3 段階で培養し、コロニーの酵母状と菌糸状形態の割合について観察した結果、低温下での培養ではコロニーのほとんどが酵母状だったのに対し、温度の上昇に伴いコロニーの周囲から菌糸が旺盛に伸長し、コロニー全体の菌糸状形態の割合が大きくなった。*M. blollopis* SK-4 株を生クリーム寒天培地に移植し 4°C、10°C、15°C の 3 段階で培養した結果ハローの大きさは菌糸状の部分より酵母状の部分の方が大きかった。これらのことから、細胞の形態によってリパーゼの分泌量が変わることが明らかとなった。