

混合培養における微生物増殖比の測定に用いる種特異的プライマーの開発

1180244 濱田峻平

Development of species-specific primers for quantitative PCR

Ryohei Hamada

to estimate the ratio of fungi in mixed culture

セルロース系原料からエタノールを製造するには、脱リグニン、糖化、発酵といった多段階の手順を経る必要があり、工程が多くコストが高いことが問題となっている。そこで複数種の木材腐朽菌を利用し、脱リグニン糖化発酵を1つの反応槽で行う一貫バイオプロセスによるコスト削減が期待されている。しかし、複数の微生物を同時に増殖させるには工夫が必要で、さらにそれぞれの菌がどのような比率で増殖しているのか評価する必要がある。

本研究では、木材腐朽菌であるスエヒロタケ(発酵目的)、ヤケイロタケ(リグニン分解)、オオウズラタケ(糖化目的)を用いた混合培養から効率よくエタノール生産をするために、それぞれの菌の増殖比を調べることにした。増殖比の比較には、種特異的プライマーを用いたPCR法により菌類のDNAを検出する方法を考えた。その種特異的プライマーには、真菌類の種を判定する遺伝子であるrDNAから種に特異的な配列を選んで設計した。設計したプライマーおよび、検出対象の菌種のゲノムをテンプレートとして用いてPCRを行い、種に特異的な増幅がみられるかどうか確認した。さらに混合したゲノムを用いて定量PCRを行い、定量性が確かめられたプライマーを採択した。