

2G09-5 コケ培養細胞を用いた大気環境の迅速かつ定量的な評価法の開発 (その3)

田村知佳子, 青柳 秀紀, 〇田中 秀夫
(筑波大院・生命環境)

【目的】演者らは、大気汚染物質に対して感受性が高いゼニゴケの培養細胞を用い、汚染物質によりダメージを受けた細胞表面層の特性を、プロトプラスト化反応を利用することで迅速かつ定量的に捉える、高感度な大気環境評価法の開発研究を行った¹⁾。今回は、開発した評価法を用い、複数の汚染物質がゼニゴケ細胞に及ぼす複合的影響の解析を行うと共に、実際の大气および雨をサンプリングし、その評価を行うことで本法の有用性を検証した。

【方法及び結果】ゼニゴケ細胞にSO_xのモデル物質であるH₂SO₃を種々の濃度で作用させたところ、作用濃度の増加に対して比例的にダメージが増大した。一方、NO_xのモデル物質であるHNO₃を作用させた場合、濃度の増加に対して対数的にダメージが増大した。これらの結果から、汚染物質の濃度と細胞に与えるダメージの大きさとの相関関係は汚染物質の種類によって異なることが示された。また、汚染物質の複合的影響評価について検討を行った結果、単独では無害でもそれらが合わさった時に細胞へのダメージが劇的に増大することが明らかとなった。さらに、実際の大气や酸性雨をサンプリングし、その毒性評価を行った結果、分析機器では捉えられない複数の汚染物質の影響を総合的に評価することができ、本法の有用性が示唆された。

1) 日本生物工学会講演要旨 (平成14年:p.159, 平成15年:p.221)

Development of quantitative method for assessing the atmospheric environment using cultured bryophyte cells. (Part 3)

Chikako TAMURA, Hideki AOYAGI, 〇Hideo TANAKA
(Life Sci. Bioeng., Grad. Sch. Life and Env. Sci. Univ. Tsukuba)

Key words *Marchantia polymorpha*, bioindicator, protoplast

2G10-2 ビール製造排水を用いた水素・メタン二段発酵技術の開発

〇沖 泰弘¹, 渥美 亮¹, 三谷 優¹, 高塩 仁愛¹,
平賀 哲男², 西尾 尚道³
(¹サッポロビール・フロンティア研, ²島津・官大本部, ³広
大院・先端・分子生命)

【目的】ビール製造排水の多くは、UASB メタン発酵で処理されているが、同法は固形分を処理できないことなどの課題点がある。そこで、固形分の分解と生成ガスとしてより質の高い水素を直接得ることを目的に、水素・メタン二段発酵技術を開発中である。

【方法及び結果】ビール製造排水を用いて1Lスケールの発酵試験を行ったところ、前段の水素発酵では供給した排水1Lあたり約2Lの水素を生成し、後段のメタン発酵では水素発酵排出液の残存成分より約6Lのメタンを生成し、メタン発酵単独に比べてエネルギー収支の向上が認められた。次に、同技術の実プラント展開を目指すべく規模拡大試験を実施した。30L容発酵タンクを用いて、水素発酵最適条件を検討し、発酵速度の向上を目的として微生物の高密度固定化技術について検討を行った。さらに、水素発酵の安定化を目的として、発酵不良時からの回復方法について検討を行った。その結果、ビール製造排水を用いた30Lスケール試験でも安定した水素生成が確認され、水素収率において1Lスケール試験とほぼ同様の結果を得た。一方、この水素発酵菌叢についてDGGE解析を実施し、確認された各バンドについて菌種の同定を行った。現在、個々の菌について水素発酵への寄与を確認するとともに、より安定かつ高効率に水素を生成する菌叢の構築を目指し検討中である。

A model study of hydrogen and methane two-stage fermentation from brewery effluent

〇Yasuhiro OKI¹, Ryo ATSUMI¹, Yutaka MITANI¹, Masachika TAKASHIO¹, Tetsuo HIRAGA², Naomichi NISHIO³
(¹Frontier Labs, Sapporo Breweries Ltd., ²Shimadzu Corp., ³Dept. Biotech, ADMS, Hiroshima Univ.)

Key words hydrogen, methane, two-stage, brewery effluent

2G10-1 Production of poly(L-lactide)-degrading enzyme by *Amycolatopsis orientalis* for biological treatment of poly(L-lactide)

〇Amnat JARERAT^{1,2}, Yutaka TOKIWA³,
Hideo TANAKA¹
(¹Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ²C.P.R. Co.,
Ltd., ³IBRF, AIST)

Highly production of poly (L-lactide) (PLA) -degrading enzyme was achieved by an addition of 0.1% (w/v) silk powder into a liquid culture medium of an actinomycete, *Amycolatopsis orientalis* without other complex nitrogen sources, such as yeast extract and peptone. Scale-up production of the enzyme in a 3 liter-jar fermentor showed the possibility of producing this enzyme in the industrial scale with low production cost. The PLA-degrading enzyme showed high degrading activity, i.e., 5 mg of PLA powder was almost degraded within 4 h at 30 °C using 1 ml of the culture broth. A strong PLA-degrading activity is effective for biological treatment of plastic wastes containing PLA.

Production of poly(L-lactide)-degrading enzyme by *Amycolatopsis orientalis* for biological treatment of poly(L-lactide)

〇Amnat JARERAT^{1,2}, Yutaka TOKIWA³, Hideo TANAKA¹
(¹Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ²C.P.R. Co., Ltd., ³IBRF,
AIST)

Key words biodegradable plastic, enzyme production, poly(L-lactide), actinomycetes

2G10-3 *Pseudomonas aeruginosa* の環境汚染物質認識機構の解析

〇下城麻衣子¹, 洪 昌秀¹, 黒田 章夫¹, 滝口 昇¹,
大竹 久夫², 加藤 純一¹
(¹広島大院・先端・生命機能, ²阪大院・工・応生工)

運動性細菌は、アミノ酸、糖、リン酸、芳香族化合物など、様々な化学物質を認識して集積したり、逃避したりする走化性と呼ばれる行動的応答を示す。*Pseudomonas aeruginosa*は広範囲な化学的刺激に対して走化性応答を示す。本研究では、*Paeruginosa*を研究対象として、芳香族化合物や揮発性有機塩素化合物などの環境汚染物質に対する走化性応答をキャピラリーアッセイによって調べた。*Paeruginosa*は、最も頻繁に検出される環境汚染物質であるトリクロロエチレン、トリクロロエタン、テトラクロロエチレン、クロロホルムに対して忌避応答を示した。また、チオシアン酸メチルやチオシアン酸エチルについても忌避応答を示した。*Paeruginosa*は、ゲノム上に26の走化性センサー様(MCP)遺伝子を保持している。上記物質の感知に関与するMCPを同定するため、26のMCP遺伝子破壊株を作成した。作成した各破壊株を用いて、これら有機塩素化合物に対する応答を調べた。その結果、*pctABC*三重破壊株はクロロホルムやチオシアン酸メチルに対して野生株よりもはるかに弱い忌避応答を示した。*pctABC*はアミノ酸センサーであることが既に明らかとなっている。これらの結果から、アミノ酸、リン酸および酸素の感知と同様に、忌避物質の感知にも複数のMCPが関与していることが示唆された。

Molecular analysis of chemotactic responses of *Pseudomonas aeruginosa* to environmental pollutants

〇Maiko SHITASHIRO¹, Chang-soo HONG¹, Akio KURODA¹,
Noboru TAKIGUCHI¹, Hisao OHTAKE², Junichi KATO¹
(¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.,
²Dept. Biotech., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words chemotaxis, *Pseudomonas aeruginosa*, environmental pollutants, chemosensory system