

1Bp17 海水淡水化に伴い生成する濃縮海水中の金属浄化に有用な好塩性細菌の探索

○仲山 英樹¹, 池上 康之²
(¹奈良先端大・バイオ, ²佐賀大・海洋エネルギー)

【目的】近代化とともに発展してきたハイテク産業の副産物として環境中に廃棄された金属類は、現在に至るまで土壌や海洋等の環境中で残存して累積された結果、深刻な環境問題を引き起こしている。そこで我々は、金属が溶存する海洋に着目し、さらに海水淡水化プロセスの副産物として生成する濃縮海水中で濃縮された金属の回収・浄化に有用な好塩性細菌を活用した環境メタルバイオ技術の開発を目指している。特に本研究では、高塩環境に適応した好塩性細菌を利用した濃縮海水からの金属回収・浄化技術の開発を目指し、金属蓄積能に優れた好塩性細菌の探索を行うことを目的とした。

【方法と結果】佐賀県伊万里市の佐賀大学海洋エネルギーセンターに設置された伊万里湾海水の取水口付近の底泥および取水した海水を環境試料として用いた。これまでに、比較的マンガン (Mn) 溶存量の高かった伊万里湾の環境試料中から Mn 回収に有用な Mn(II)酸化細菌を4株 (NI-1, 2, 3, 4) 取得した。3-6% NaCl ストレス環境下では、NI-1株のみが高いMn(II)酸化能を維持していたことから、濃縮海水中で利用可能な株としてNI-1株を選出した。現在、16S rRNA遺伝子配列によるNI-1株の同定解析を進めている。

【今後の展開】本研究の進展により、海水淡水化プロセスに付随した金属回収システムが実現化されれば、持続可能な省エネルギー型の環境メタルバイオ技術の創出が可能となる点が意義深い。

なお、本研究は佐賀大学海洋エネルギー研究センター共同利用研究(07004A)により行った。

Screening of metal-accumulating halophilic bacteria to remove metals from concentrated seawater produced by desalination process

○Hideki NAKAYAMA¹, Yasuyuki Ikegami²
(¹Grad. Sch. Biol. Sci., NAIST, ²Inst. Ocean Energy, Saga Univ.)

Key words desalination, concentrated seawater, metal bioremediation, halophilic bacteria

2Ba02 微細藻類におけるストレス応答物質の機能解析－緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* のアブシジン産生合成経路の解析－

○石田 洋基¹, 松原 惇起², 馬場 健史², 福崎 英一郎², 原田 和生¹, 平田 収正¹
(¹阪大院・薬, ²阪大院・工・生命先端)

【背景・目的】我々は優秀な環境ストレス耐性遺伝子探索を目的として、植物の進化上の起源であり、多様な環境に適用し生育する微細藻類を研究材料とし、ストレス応答メカニズムの解析を行っている。これまでに淡水性緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* において、外部から添加したアブシジン酸 (ABA) が高等植物と同様にストレス応答シグナル物質として機能することを明らかにした。そこで、本研究は緑藻におけるABA生合成代謝のストレスによる変動を解析することを目的とした。

【方法・結果】高等植物ではABAは非メバロン酸経路、カロテノイド合成経路を経由する。そこで、まず超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析法 (SFC/MS) を用いて、カロテノイド類を迅速に精密解析できる分析系を構築した。当該手法により各種ストレスを負荷した緑藻中のカロテノイド蓄積量の変動を解析した結果、酸化ストレスによる zeaxanthin, antheraxanthin 蓄積量の増加が確認された。これらのカロテノイドの蓄積は、*C. reinhardtii*においてABA生合成が酸化ストレス特異的に誘導される可能性を示唆する。現在、LC/MS/MSによる高感度のABA分析系を構築し、酸化ストレスを負荷した*C. reinhardtii*細胞内ABA含量測定を試みている。

Function analysis of stress responder in microalgae-analysis of biosynthetic pathway of abscisic acid in *Chlamydomonas reinhardtii*

○Hiroki ISHIDA¹, Atsuki MATSUBARA¹, Takeshi BAMBIA², Eiichiro FUKUSAKI², Kazuo HARADA¹, Kazumasa HIRATA¹
(¹Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ., ²Dept. Biotech., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words *Chlamydomonas reinhardtii*, abscisic acid, carotenoid, oxidative stress

2Ba01 淡水性緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における適合溶質 proline の生合成機構の解析

○公文 崇夫, 三好 啓太, 吉川 友章, 平田 収正
(阪大院・薬)

【目的】生物は環境ストレスに対して分子シャペロンの誘導や適合溶質の蓄積といった様々な適応機構を備えている。これまでに我々は、高等植物や細菌の適合溶質として知られるプロリンが、緑藻 (*C. reinhardtii*) においても、塩や浸透圧ストレス負荷により細胞内に蓄積することを見出し、本緑藻におけるプロリン代謝調節機構の解析ならびにそれらの情報を基盤としたストレス耐性植物の分子育種を進めている。一般に細菌においては、 γ -glutamyl kinase (GK) と γ -glutamyl phosphate reductase (GPR) によってグルタミン酸を基質としたプロリン合成が進行するのに対し、高等植物においては δ -¹-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) が両反応を触媒する。我々は本緑藻由来の GK ホモログ (CR-GK) ならびに GPR ホモログ (CR-GPR) の全長塩基配列の同定に成功している。本発表では CR-GK と P5CS の GK 活性と特性について比較解析したので報告する。【結果・考察】まず、CR-GK と P5CS の精製蛋白質を用いて GK 活性を比較したところ、CR-GK は P5CS よりも有意に高い活性を示した。また、他生物の GK や P5CS はプロリンのフィードバック阻害を受けることが報告されているが、CR-GK はこれらの酵素に比べてフィードバック阻害を受けにくいことが明らかとなった。そして、CR-GK 導入大腸菌では細胞内プロリン含量の顕著な増大が認められた。以上、我々は CR-GK は他のプロリン合成関連酵素とは異なる特性を有することを見出した。現在、CR-GK における機能ドメインの探索や CR-GPR の詳細な機能解析を進めており、ストレス耐性植物作出を目指している。

Biosynthetic mechanism of proline ,compatible solute, in *Chlamydomonas reinhardtii*

○Takao KUMON, Keita MIYOSHI, Tomoaki YOSHIKAWA, Kazumasa HIRATA
(Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.)

Key words *Chlamydomonas reinhardtii*, proline, biosynthesis, gamma-glutamyl kinase

2Ba03 テトラヒドロフラン資化性細菌の単離と特性化

○林田 直樹, 大久保 俊克, 加藤 純一, 滝口 昇
(広島大院・先端・生命機能)

【目的】テトラヒドロフラン(以下THF)は、有機合成反応における抽出溶媒や反応溶媒などの工業的用途に多量に使用されている。しかしTHFは化学的には不活性であるため、工業用水や地下水などから環境中に長期残存することが懸念されている。THFには麻酔作用があり、p-450をはじめとする多くの酵素活性を阻害するため、人体に有害である。本研究ではこのTHF生分解処理システム確立のため、THF分解微生物を探索し、その性質を解析することを目的とした。

【方法・結果】小規模な活性汚泥処理システムを用いて、活性汚泥を馴養することで、THF資化性菌の単離を試みた。このシステムでは、3回/日の頻度で培養液の引き抜きと、新鮮な培地の流入をタイマーで制御されたポンプで自動的に行う。この反復回分培養液を種菌としてTHFを含んだMSB無機培地に1%植菌し回分集積培養を数回行ったあとに培養液を適せん希釈し、TSB固體培地に塗布することで純粋分離を行った。結果、菌の増殖がみられた培養系から、THF資化性細菌 *Rhodococcus ruber* の単離に成功した。この菌は5mMのTHFで菌体濃度がOD600=1.0付近まで増加し、THFの他にジェチルエーテル、1,4-ブタンジオール、 γ -ブチロラクトンなどを資化し、pH6-9の範囲で増殖することができる。現在、*R. ruber* から、THF分解酵素の探索をおこなっている。

Degradation of tetrahydrofuran by *Rhodococcus ruber*

○NAOKI HAYASIDA, TOSHIKATU OKUBO, JYUNICHI KATOU, NOBORU TAKIGUTI
(Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

Key words tetrahydrofuran