

**1P-165** **ブタノール耐性菌 CM4A 株の生育と溶媒耐性に及ぼす pH の影響と機構解明**

○菅野 学, 玉木 幸幸, 三谷 恭雄, 木村 信忠, 花田 智, 鎌形 洋一  
(産総研・生物プロセス)  
manabu-kanno@aist.go.jp

バイオ燃料として期待されるブタノールは、高い微生物毒性が発酵生産における制約となっている。高効率なブタノール生産を実現するためには、生産宿主に高ブタノール耐性菌を用いると同時に、温度・pH 等の培養環境要因がブタノール耐性に与える影響について調査し、生産時の培養制御に有用な生物学的知見を収集することが望まれる。従来のブタノール耐性に関する研究は、生育可能 pH 範囲が限定的な微生物を対象に行われてきたため、微生物の溶媒耐性に及ぼす pH の影響については全く知られていない。我々は、独自に分離した *Enterococcus* 属細菌 CM4A 株が、高いブタノール耐性能 (3.5%) を示し、且つ広い pH 領域 (pH 4-12) で生育可能であることを見出した。そこで、本 CM4A 株の生育と溶媒耐性に及ぼす pH の影響を調べたところ、CM4A 株は通常アルカリ側 (pH 8.0, pH 10.0) で優れた生育を示すのに対して、ブタノール耐性については弱酸性側 (pH 6.0, pH 6.8) で相対的に高いことが確認された。pH 条件の変化やブタノール添加に伴う膜脂質組成の変化を調べたところ、弱酸性側で顕著な飽和脂肪酸や環状脂肪酸の増加が見られ、これらの脂肪酸組成の変化によって膜安定性を維持することが可能となり、高いブタノール耐性能を獲得している可能性が示唆された。一方で、ブタノールに対する能動的な膜応答はアルカリ条件でみられず、CM4A 株はアルカリ条件に適応するために短鎖脂肪酸を増加させて膜流動性を上げた結果、ブタノールに対する感受性が高まったと推察された。

**Effect of pH conditions on growth and butanol tolerance of a butanol-tolerant bacterium strain CM4A**

○Manabu Kanno, Hideyuki Tamaki, Yasuo Mitani, Nobutada Kimura, Satoshi Hanada, Yoichi Kamagata  
(BRI. AIST)

**Key words** butanol, alkali-tolerant, membrane lipids, biofuel

**1P-167** **水素生産に関与する大腸菌のジャンク遺伝子の機能追究**

○橋口 有也<sup>1</sup>, MOHD YUSOFF MOHD Zulkhairi<sup>1,2</sup>, 前田 憲成<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九工大・生体工・生体機能, <sup>2</sup>マレーシア プトラ大学)  
toshi.maeda@life.kyutech.ac.jp

[目的] 多くの生物には、タンパク質をコードする遺伝子と非常によく似た配列を持つ多数の偽遺伝子 (ジャンク遺伝子) が存在している。今回大腸菌 K-12 株の 5 の機能未知の偽遺伝子についてスクリーニングした結果、3 つの偽遺伝子が水素生産に関わることがわかった。しかし、偽遺伝子は、本来の遺伝子の DNA 配列にいくつもの変異や欠失がみられるため、タンパク質の設計図としては機能しないはずである。そこで本研究では、これら偽遺伝子が持つ遺伝子機能を解析することを目的とした。

[方法] 単一遺伝子欠失株である KEIO 変異株を用いて、グルコースまたはギ酸を含む富栄養培地で嫌気発酵させた。発酵後にガスクロマトグラフにより発生した水素量を測定した。また、最少培地で発酵させた培養液中の有機酸蓄積量を測定した。

[結果] 5 の変異株のうち *ydfW*, *ypdJ* と *yqiG* の偽遺伝子変異株は、グルコース培地では水素ガスを生成しなかった。またギ酸培地では、*yqiG* 変異株は水素生産が回復したが、*ydfW* と *ypdJ* 変異株は水素生産が見られなかった。次に最少培地を用いて親株との有機酸蓄積量の違いを調査した。*ydfW*, *ylcE*, *ypdJ* と *yqiG* 変異株においてはギ酸の濃度が高かったことから、*ydfW* と *ypdJ* はギ酸から水素ガスを生成する経路に関与していることが示唆された。また *yqiG* と *ylcE* はグルコースからギ酸までの代謝経路に関与していることが示された。

**Uncharacterized *Escherichia coli* pseudogenes are related to bacterial hydrogen production**

○Yuya Hashiguchi<sup>1</sup>, MOHD Zulkhairi MOHD YUSOFF<sup>1,2</sup>, Toshinari Maeda<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Life Sci. Syst. Eng., Kyushu Inst. Technol., <sup>2</sup>Fac. Biotechnol. Biomol. Sci., Univ. Putra Malaysia)

**Key words** *Escherichia coli*, metabolic engineering, Pseudogene, biohydrogen

**1P-166** **アルギン酸分解細菌からのエキソ型アルギン酸リアーゼの探索**

○モリ テツシ<sup>1,2</sup>, 高橋 真美<sup>1,2</sup>, 緑川 直子<sup>1,2</sup>, 柴田 敏行<sup>3,2</sup>, 黒田 浩一<sup>4,2</sup>, 植田 充美<sup>4,2</sup>, 竹山 春子<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>早大・ASMeW, <sup>2</sup>JST・CREST, <sup>3</sup>三重大院・生資・生物圏生命, <sup>4</sup>京大院・農・応用生命)  
moritets@aoni.waseda.jp

近年、海藻がバイオエタノールの有用な資源として注目されている。海藻の成分にはアルギン酸が多く占められているため、最大限に海藻をバイオマスとして用いるために、分解能の高いアルギン酸分解酵素が求められている。本研究ではアルギン酸リアーゼのエキソ型の探索を目的として、海藻摂食動物の糞便や腸内物および発酵海藻等からアルギン酸分解細菌の単離培養を行い、アルギン酸分解酵素の解析を行った。各サンプルから調整した菌体画分をアルギン酸ナトリウムを混合したマリンブロスで培養し、その後、アルギン酸分解細菌のスクリーニングを行った。得られたアルギン酸分解細菌の種同定は、16S rRNA 解析により行った。次に、各菌体を細胞破碎した後、その溶液を濃縮しアルギン酸ナトリウム溶液と混合した。30℃でインキュベーション後、0.1% 1,3-ジヒドロキシナフタレンを用いて分解物を薄層クロマトグラフィー (TLC) により解析した。アルギン酸分解細菌の 16S rRNA 解析を行った結果、*Shewanella* 属および *Vibrio* 属に加え、9 属のアルギン酸分解細菌の単離が示唆された。*Rhodobacter*, *Vibrio* および *Alteromonas* 属に同定された細菌中には、既知の 16S rRNA 配列との相同性が 97% 以下の株も得られた。次に、得られたアルギン酸分解細菌によるアルギン酸の分解物を TLC で解析した結果、11 種類の分離株がエキソ型の酵素を保有している可能性が示された。

**Screening for exolytic alginate lyases from marine bacteria**

○Tetsushi Mori<sup>1,2</sup>, Mami Takahashi<sup>1,2</sup>, Naoko Midorikawa<sup>1,2</sup>, Toshiyuki Shibata<sup>3,2</sup>, Kouichi Kuroda<sup>4,2</sup>, Mitsuyoshi Ueda<sup>4,2</sup>, Haruko Takeyama<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>ASMeW, Waseda Univ., <sup>2</sup>CREST, JST, <sup>3</sup>Dept. Life Sci., Grad. Sch. Bioresour., Mie Univ., <sup>4</sup>Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

**Key words** exolytic alginate lyase, algae, marine bacteria

**1P-168** **短時間間欠的光照射による水素生産の時間遅れの利用**

○田中 康太<sup>1</sup>, 池永 直樹<sup>1</sup>, 柴田 賢<sup>2</sup>, 岡村 咲希<sup>1</sup>, 三宅 淳<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>阪大院・生命機能, <sup>2</sup>阪大院・基礎工)  
jun\_miyake@bpe.es.osaka-u.ac.jp

地球温暖化や原子力発電量を減らすため、自然エネルギーによる発電の導入は急務である。自然エネルギーの一つである光エネルギーを利用する場合の問題点は、日射量の変化によって出力が大きく変動することである。出力の変動は光エネルギーだけでなく自然エネルギーに共通する問題であり、停電を引き起こす原因ともなる利用上の大きな課題である。我々は停電の少ない安定なシステムとして光合成細菌を導入した新しいスマートグリッドを構築し評価を行っている。光合成細菌を導入したシステムでは、光合成細菌の特性である時間遅れとそれに伴う変動緩和<sup>\*</sup>が期待される。

本研究では、新たなシステムの評価を行うために、システム安定性向上に大きな役割を果たすと考えられるバッファー効果について評価を行った。短時間の間欠照射によって光合成細菌による水素生産速度の変化を調べ、システムの安定性向上について検討を行った。

\*光合成細菌による光水素発生反応は、各種時定数を有する反応の集合体であることから、入射光の変動に対する「変動緩和」が生じる。

**Time-delayed hydrogen production in Light/Dark cycle**

○Kota Tanaka<sup>1</sup>, Naoki Ikenaga<sup>1</sup>, Ken Shibata<sup>2</sup>, Saki Okamura<sup>1</sup>, Jun Miyake<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Eng. Sci., Osaka Univ.)

**Key words** biomass, photosynthetic bacteria, *Rhodobacter sphaeroides*