

3P-145 反射顕微鏡法による微生物腐食とバイオフィームの新規観察手法

○渡辺 宏紀¹, 遠矢 正城², 茂木 亮介², 稲葉 知大^{2,3}, 豊福 雅典², 宮野 泰征⁴, 野村 暢彦²
 (1)筑波大, 2)筑波大院・生命環境, 3)産総研・環境管理, 4)秋田大・工学研究科)
 nomura.nobuhiko.ge@u.tsukuba.ac.jp

微生物腐食(MIC)は微生物の活動が主因子とされる金属腐食であり、常温・中性環境下でも金属が大きな損傷を受ける場合がある。よって理解と防止が求められている。MICの発生した金属表面には微生物によるバイオフィーム(BF)が観察されており、BFがMICの関係が考えられていた。しかし、技術的な問題からBF形成とMICが同時に観察された例はなく、両者の関係性についての知見は乏しい。そこで我々は、当研究室のCOCRM(Continuous-optimizing Confocal Reflection Microscopy)法(1, 2)を用いることとした。本法では反射光を検出するため、BFの形成と金属表面の腐食の発生を継続的に観察することが可能であり、MICの解析に非常に有用な観察手法である。ステンレス鋼を千葉県富津にて得た海水に浸漬し、表面に形成されたBFをCOCRM法にて観察した。実際に金属表面へのBF形成とMICの進行を継続的に可視化することに成功した。また、そのBFから単離した菌を用いた観察では金属表面に立体的なBFが形成される様子が確認され、腐食孔と推測される孔の上部には細胞外多糖が存在することが示された。本発表では、COCRM法を用いたMICの新規観察手法に加え、それを用いることで得られたBFとMICに関する知見を報告する。

(1)Yawata et al. J.Biosci.Bioeng. 2010 (2) Inaba et al. Microbiol. Immunol. 2013

Visualization of microbiologically influenced corrosion by using continuous optimizing confocal reflection microscopy

○Hiroki Watanabe¹, Masashiro Tohya², Ryosuke Mogi², Tomohiro Inaba^{2,3}, Masanori Toyohuku², Yasuyuki Miyano⁴, Nobuhiko Nomura²
 (1)Univ. Tsukuba, 2)Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, 3)Res. Inst. Environ. Manage. Technol., AIST, 4)Grad. Sch. Eng. Akita University)

Key words biofilm, microscopy, microbially influenced corrosion

3P-146 大腸菌のフロック形成とメンブランベシクル産生の関連性

○尾島 由紘, Nguyen Minh, 矢嶋 黎輝, 田谷 正仁
 (阪大院・基礎工)
 ojima@cheng.es.osaka-u.ac.jp

【目的】本研究グループは、これまで大腸菌のセルロース合成関連遺伝子である*bcsB*の過剰発現により、フロックが自発的に形成されることを報告している。一方で、メンブランベシクルとはグラム陰性細菌の外膜が部分的に遊離することで産生される直径20-250 nm程度の細胞外小胞であり、バイオフィームなどの微生物集合体の形成において、重要な役割を果たしている。本研究では、大腸菌フロック形成における重要因子として、メンブランベシクルの産生量に着目し、解析を行った。

【方法および結果】*bcsB* 遺伝子を導入した大腸菌を2 g/Lのグルコースを含むLB培地を用いて37°Cで培養し、目視観察により数mm程度のフロック形成を確認した。フロックを種々の加水分解酵素で処理したところ、プロテアーゼのみが高い分解性を示し、フロックの主構成成分はタンパク質であると考えられた。次に、フロックに含まれるタンパク質をSDS-PAGEとそれに続くLC-MS/MSにより解析したところ、細胞外膜タンパク質OmpAとOmpCが検出されたため、メンブランベシクルの関与が示唆された。そこで、メンブランベシクル産生が促進または抑制されると報告されている遺伝子欠損株について(それぞれ、*AdegP*, *AdsbA*)、フロック形成を確認したところ、メンブランベシクル産生量の増加に伴いフロック形成が誘導されることを確認された。以上の結果より、大腸菌のフロック形成過程において、メンブランベシクルの産生が関与していることが示唆された。

The relationship between flocculation and outer membrane vesicle production by *Escherichia coli* cells

○Yoshihiro Ojima, Minh Nguyen, Reiki Yajima, Masahito Taya
 (Grad. Sch. Eng. Sci., Osaka Univ.)

Key words flocculation, outer membrane vesicle, *Escherichia coli*

3P-147 ランダムペプチドライブラリー提示酵母を基にしたレアアース選択吸着回収酵母のスクリーニング法

○伊藤 理央, 橋本 遙, 黒田 浩一, 植田 充美
 (京大院・農)
 miueda@kais.kyoto-u.ac.jp

[背景・目的]

近年、レアアース(REE)はハイテク製品に欠かせない金属としてその需要が増大しているが、国際価格の上昇や埋蔵量の少なさや偏在による供給構造の脆弱性が問題となっている。特に日本はREEのほとんどを輸入に依存しており、都市鉱山中のREEを有効利用するため、効率的なリサイクル技術の確立が求められている。我々はこれまでに、酵母細胞表面工学を用いた環境汚染重金属の除去と水質浄化や、金属イオンの選択回収によるバイオリサイクル技術の開発を進めてきた^[1,2]。この技術をREEの吸着回収に展開していくためには、REE吸着ペプチド・タンパク質が必要となるが、天然にその存在は確認されていない。そこで、本研究ではREEを吸着する新規ペプチドの探索とその細胞表面提示によるREEの選択的吸着回収を目的とした。

[方法・結果]

REEの一種であり、光ファイバーをはじめ様々なハイテク製品に用いられる有用なテルビウムイオン(Tb³⁺)に対して吸着能を示す新規ペプチドを得るため、ランダムなアミノ酸配列を持つペプチドを提示した酵母ライブラリーを作製した。磁性ビーズを用い、ライブラリーからTb³⁺吸着能の有無によりスクリーニングを行った。スクリーニング条件の検討により、Tb³⁺吸着能を向上させた新規ペプチド提示酵母が得られたので、レアアース吸着回収スクリーニング法についてまとめて報告する^[3]。

[1] K. Kuroda, M. Ueda, Appl. Microbiol. Biotechnol., 87, 53-60 (2010)

[2] K. Kuroda, M. Ueda, Curr. Opin. Biotechnol., 22, 427-433 (2011)

[3] R. Ito et al, submitted

Screening method of rare-earth-elements-selective-adsorbing yeasts on basis of yeast library displaying random peptides

○Rio Ito, Haruka Hashimoto, Kouichi Kuroda, Mitsuyoshi Ueda
 (Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

Key words cell surface engineering, rare earth elements, recovery technology

3P-148 レアアースの回収を目的とした微細藻類の探索とその収着特性

○古橋 康弘, 越川 博元
 (龍谷大院・理工)
 kosikawa@rins.ryukoku.ac.jp

【目的】近年、レアアースを巡る問題として、その偏在性が問題となっている。レアアースは電子部品の材料として重要な役割を果たすが、その多くは中国、アフリカ諸国等に多く埋蔵している。特にレアアースの一種であるレアアースは97%が中国に埋蔵している。このような埋蔵量の偏在性は国家間の外交問題等によるレアアースの価格の高騰・急落の原因となる。従って現在、廃棄物に含まれるレアアースを回収し、再利用することで輸入以外と供給源を確立することが急務となっている。また廃棄物から有価金属を回収する場合、環境汚染や新たな廃棄物が発生しないように環境負荷を低減することが望ましい。微細藻類を用いて、薬剤等の投入を必要としない低環境負荷型のレアアースの回収を最終目的としてレアアースを収着する微細藻類の探索と収着機構の解明を本研究の目的とした。

【実験方法】環境中から採取した微細藻類を有機培養液中で培養し、洗菌した後、100mg/LのEuCl₃またはYCl₃溶液を加え、明所で24時間振とうした。藻体と金属溶液を分離した後、藻体に0.1M NH₄O₃を加えて金属を溶出した。金属溶液と溶出液のEu及びYの金属濃度をICPを用いて測定した。

【結果及び考察】Eu及びYの吸着が確認できた24の藻類群のうち、特に収着量が多かった1群集を選定した。その藻類群集をビベット洗浄法で単離した後、無機培養液中で培養することで微細藻類を分離した。得た微細藻類の湿重量1gあたりの収着量は、それぞれ5.6mg-Eu/g-wet、3.4mg-Y/g-wetであった。しかし光条件を暗所とすることでその収着量は2.0mg-Eu/g-wet、1.2mg-Y/g-wetまで低下した。

Isolation and characterization of algae for recovery of rare earth elements

○Yasuhiro Furuhashi, Hiromoto Kosikawa
 (Dept.Sci.Technol.,Ryukoku Univ.)

Key words rare earth, biosorption, algae