

2Cp19 モエジマシダにおけるヒ素排出と輸送の検討

○菅原 一輝, 畑山 正美, 井上 千弘
(東北大院・環境)
hatayama@er.kankyo.tohoku.ac.jp

【背景・目的】環境中のヒ素汚染浄化法としてヒ素超集積植物であるモエジマシダ (*Pteris vittata* L.)を用いたファイトレメディエーションが注目されている。私たちは、一昨年度大会でモエジマシダ根から一部のヒ素の排出と蓄積後のヒ素転流について報告した。ヒ素蓄積後の排出は除染に大きな影響を与えると考えられるものの、詳細な検討はこれまでできていなかった。そこで、本研究では根からの取り込みではなく、葉面吸収(foliar application)によるヒ素取り込み後の根からのヒ素排出と蓄積後のヒ素の移送について検討を行った。

【方法・結果】水耕栽培下のモエジマシダの羽片の半数にヒ酸・亜ヒ酸をそれぞれ噴霧し、培養液と羽片(葉)のヒ素濃度の経時変化(24時間)を測定した。ヒ素噴霧24時間後に根と地上部を採取し、それぞれのヒ素濃度を誘導結合プラズマ質量分析装置を用いて測定した。ヒ素は噴霧された羽片から未噴霧の羽片や根に移行していた。しかしながら、前回報告された根から培養液中への排出は観察されなかった。前回報告した根のヒ素濃度と大きな違いは無いものの排出は確認されなかった。従って、羽片から根へ輸送されたヒ素は根から取り込まれたヒ素と異なり排出経路を経ないと考えられた。また、土壌栽培下でヒ酸・亜ヒ酸の葉面吸収実験を行い、各羽片より小羽片を採取しヒ素濃度の経時変化を測定した。その結果、新生羽片のヒ素濃度の増加と時間経過後の減少が観察された。

Efflux and transport of arsenic in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L.

○Kazuki SUGAWARA, Masayoshi HATAYAMA, Chihiro INOUE
(Grad. Sch. Environ. Stu., Tohoku Univ.)

Key words *Pteris vittata* L., arsenic, efflux, foliar application

2Da01 *Stenotrophomonas maltophilia* No. 43 株由来アルギン酸リアーゼの酵素化学的諸性質の検討

○梅村 源, 末 信一郎
(福井大院・工・生応化)
suyeb10@u-fukui.ac.jp

【目的】海藻などの海洋バイオマス資源は、大規模な栽培が可能であり、繁殖力が強いため栽培自体も容易であるなどの利点を持つことから、バイオマスエネルギーの原料として近年注目されてきている。本研究ではこのような海藻の主要な多糖の1つであり、イオン交換反応による抽出精製が容易であるアルギン酸をバイオマスとして利用することを最終の目的とし、*Stenotrophomonas maltophilia* No. 43株由来アルギン酸分解酵素(アルギン酸リアーゼ)の諸性質の検討を行った。

【実験及び結果】*S. maltophilia* No. 43株由来のアルギン酸リアーゼについて、アルギン酸分解に伴う吸光度235 nmの増大及び粘度低下の測定することで活性の評価を行った。その結果、本酵素はアルギン酸に対しエキソ型に作用し、分解物としてアルギン酸オリゴ糖を生産することが推定された。また、2-メルカプトエタノールなどの還元剤存在下において、活性の低下及び失活が確認されたため、本酵素にはジスルフィド結合が存在することが示唆された。さらに、基質特異性について検討した結果、本酵素はポリマンヌロン酸及びマンヌロン酸とグルロン酸のヘテロポリマー領域に対し分解性を有することがわかった。現在本酵素のクローニングを目的としてN末端アミノ酸配列解析等、詳細な性質の検討を行っている。

Enzymatic properties of alginate lyase from *Stenotrophomonas maltophilia* No. 43

○Hajime Umemura, Shin-ichiro Suye
(Dept. Appl. Chem. Biotechnol., Univ. Fukui.)

Key words Alginate lyase, Marine biomass, Seaweed

2Cp20 気生微細藻類利用型バイオリアクターのアンモニウムイオン除去能向上に伴う藻細胞の代謝活性の検討

○尾藤 友裕, 油井 信弘, 阿部 克也
(工学院大・工・応化)
bt10335@ns.kogakuin.ac.jp

【目的】演者らは、気生微細藻類 *Trentepohlia aurea* (*T. aurea*) をガラス繊維ろ紙に着生させることでバイオフィルターを作製し、バイオリアクターによる水質浄化を検討している。本報告では、バイオリアクターのアンモニウムイオン除去能向上を目的とする前処理時の藻細胞の代謝活性について検討した結果を述べる。

【方法】改変BB培地(N源: NH_4Cl)で前培養した *T. aurea* の細胞懸濁液とガラス繊維ろ紙でバイオフィルターを作製し、それをガラスカラムに充填したバイオリアクターを構築した。合成廃水はリアクター内で循環させ、アンモニウムイオン濃度を経時的に測定した。また、N源無添加BB培地をリアクター内で循環させた。この操作を循環型前処理と呼ぶ。その際、フィルターから藻体を採取し、凍結乾燥後に全窒素量などの成分分析を行った。

【結果】各光強度における循環型前処理を行った結果、アンモニウムイオンの除去率は光強度57 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ で高い値を示し、光強度100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ および0 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ はほぼ同様に低下した。したがって、循環型前処理は *T. aurea* の細胞胞内の窒素消費などを促し、廃水中のアンモニウムイオン除去能を高めたと考えられる。これに対して、光強度57 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ におけるバイオフィルターの全窒素量は前処理期間48時間後まで減少が認められた。

Relationship between metabolic activity and removal ability of ammonium ion for bioreactor using biofilter composed of aerial microalgae

○Tomohiro Bito, Nobuhiro Aburai, Katsuya Abe
(Dept. Appl. Chem., Fac. Eng., Kogakuin Univ.)

Key words Aerial microalgae, Biofilter, Bioreactor, Ammonium

2Da02 *Streptomyces albidoflavus* 由来ホスホリパーゼ A1 の精製と特性解明、遺伝子クローニング

○杉森 大助, 加納 功大
(福島大院・理工)
sugimori@sss.fukushima-u.ac.jp

【緒言】ホスホリパーゼA1 (以下PLA1と略す) は、グリセロリン脂質の *sn*-1位の脂肪酸エステル結合の加水分解を触媒する酵素であり、油脂精製や食品加工分野への応用が期待されている。これまでに、糸状菌由来および *Serratia* 属細菌由来PLA1が報告され、唯一 *A. oryzae* 由来PLA1が実用化されている。しかしながら、依然として触媒特性に課題があることから、さらに優れた特性を持つPLA1の開発が望まれている。本発表では、スクリーニングにより見出した有用な特性を持つ *Streptomyces albidoflavus* 由来新規PLA1の精製、特性解明、遺伝子クローニングについて報告する。

【結果と考察】土壌から放線菌約1,500株を分離し、目的酵素活性を示す菌株として *S. albidoflavus* NA297を選抜した。培養上清から硫酸分画、クロマトグラフィー精製により、精製PLA1 (2873 U/mg)を得た。本酵素は分子質量約28 kDaの単量体タンパク質であった。卵黄ホスファチジルコリンを基質とした場合、pH 5.6および50℃付近において最大活性を示した。本酵素は、金属塩の有無にかかわらず触媒活性を示し、主要なグリセロリン脂質すべてに作用可能であった。GC分析の結果、本酵素は *sn*-1,2位の脂肪酸エステル結合を約7:3 (モル比)で加水分解することがわかった。遺伝子クローニングの結果、本酵素の構造遺伝子は807 bpからなり、N末端33アミノ酸残基が分泌シグナルペプチドで、成熟型酵素は236アミノ酸残基からなることがわかった。成熟型酵素のアミノ酸配列は、*S. albus* J1074ゲノム解析で見出された推定タンパク質Lipase_GDSLのアミノ酸配列と100%一致した。

Purification, characterization, and gene cloning of *Streptomyces albidoflavus*

○Daisuke Sugimori, Kota Kano
(Grad. Sch. Symbio. Sys. Sci. Tech., Fukushima Univ.)

Key words phospholipase A1, *Streptomyces*, purification, gene cloning