

「藻類・水圏微生物の機能解明と制御による
バイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」
平成23年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告

久堀 徹

東京工業大学資源化学研究所・教授

ハイパーシアノバクテリアの光合成を利用した含窒素化合物生産技術の開発

§1. 研究実施体制

(1) 久堀グループ

- ① 研究代表者: 久堀 徹 (東京工業大学資源化学研究所、教授)
- ② 研究項目
 - ・ATP 生産効率の向上
 - ・成長速度の向上
 - ・シアノバクテリアによる含窒素化合物の生産(原グループと共同)

(2) 原グループ

- ① 主たる共同研究者: 原 亨和 (東京工業大学 ソリューション研究機構、教授)
- ② 研究項目
 - ・シアノバクテリアによる含窒素化合物生成条件の確立
 - ・含窒素化合物回収触媒の開発
 - ・含窒素化合物回収技術の構築

§ 2. 研究実施内容

平成 23 年度は、平成 24 年 4 月からの本格的なプロジェクトの開始に向けて、研究遂行に必要な基礎的な情報の収集および研究環境の整備に注力した。また、研究実施体制において挙げた各研究項目について、以下のような成果を上げた。

(1) ATP 生産性の向上に資する ATP 合成酵素の制御に関する研究(久堀グループ)

シアノバクテリアを材料として進めている ATP 合成酵素の制御に関する研究では、この酵素の代表的な活性阻害機構である ADP 阻害の原因が、酵素分子の構造上、中央の回転軸となる γ サブユニットの立体構造変化であると推定した。そして、推定された構造変化を γ サブユニットに任意に誘導できるように必要なアミノ酸の置換による変異導入を行った結果、実際に、酵素活性を制御することが可能になった。

(2) シアノバクテリアの成長速度を調節する因子に関する研究(久堀グループ)

本プロジェクトで推進する含窒素化合物の生産のプラットフォームとなるシアノバクテリアの成長を促進する因子の研究として、*Synechocystis* sp. PCC6803 株で発見されている *pmgA* (Hihara Y. Sonoike K. and Ikeuchi, M. *Plant Physiol.* 1998, 117(4):1205-1216) にならい、本研究で材料とする窒素固定型の糸状性シアノバクテリアについて相当遺伝子の破壊株を相同組み換えにより作成した。現在、セグリゲーションチェックを実施し、破壊株コロニーの選抜を行っている。

(3) シアノバクテリアによる含窒素化合物の生産に関する研究(久堀グループ・原グループ共同)

窒素固定型の糸状性シアノバクテリアの遺伝子改変によって、含窒素化合物を光合成依存に細胞内で生産、細胞外に放出されるための基礎研究を実施した。標的とする酵素に必要な変異の導入を完了し、現在、含窒素化合物の自立的な生成が可能かどうか、液体培養によって調べる段階に移行している。また、糸状性シアノバクテリアにおいて含窒素化合物の生産能力を高めるため、窒素固定酵素ニトロゲナーゼの構成蛋白質を窒素固定細胞の形成因子とともに大量発現させる組み換え株を作製し、この株の窒素固定能を評価している。

(4) 含窒素化合物の化学的回収に関する研究(原グループ)

シアノバクテリアにより含窒素化合物を細胞外に放出させた後に、これを水溶液中から効率的に回収することが必須である。既存の技術だけでは、溶液から特定の化合物を高純度で回収するためには、莫大なエネルギーを必要とする。そこで、新規の固体材料を開発し、本プロジェクトが目的とする含窒素化合物を選択的に回収する技術開発を行っている。

本研究の過程で遷移金属酸化物が上記目的に最適な固体材料であることを見出した。この材料は表面積 $200\text{m}^2\text{g}^{-1}$ 程度の大きな表面積をもつチタンの酸化物であり、その表面には 0.2mmol g^{-1} のルイス酸活性点を有している。このルイス酸活性点は水中でも塩基を吸着できることが赤外分光法によって確認された。塩化アルミニウム等の通常のルイス酸は水中では分解することが知られている。またこのルイス酸活性点はカチオン、アニオンが存在する水中でも塩基を選択的に吸着することが見出された。これを利用して、目的とする含窒素化合物を選択的に室温条件下で吸着可能であることを確認した。