

## ラン藻の過酷環境耐性

### Serious environment tolerance in cyanobacteria, *Nostoc* sp. HK-01

五十嵐 裕一<sup>1\*</sup>, 新井真由美<sup>2</sup>, 藤代華歌<sup>1</sup>, 富田一横谷 香織<sup>1</sup>, 佐藤誠吾<sup>1</sup>, 加藤浩<sup>3</sup>, 大森正之<sup>4</sup>

IGARASHI, yuichi<sup>1\*</sup>, Mayumi Arai<sup>2</sup>, Haruka Fujishiro<sup>1</sup>, TOMITA-YOKOTANI, Kaori<sup>1</sup>, Seigo Sato<sup>1</sup>, Hiroshi Kato<sup>3</sup>, Masayuki Ohmori<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 筑波大学, <sup>2</sup> 日本科学未来館, <sup>3</sup> 三重大学, <sup>4</sup> 中央大学

<sup>1</sup>University of Tsukuba, <sup>2</sup>National Museum of Emerging Science and Innovation, <sup>3</sup>Mie University, <sup>4</sup>University of Chuo

かつて地球環境の物質循環に多大な影響を及ぼしたとされる光合成微生物であるラン藻は、過酷な閉鎖環境における物質循環を担う生物として貢献できる。火星の場合、氷やCO<sub>2</sub>を主成分とする大気が存在することから、太陽光照射による光合成生物の生育は可能である。陸生ラン藻の *Nostoc* sp. HK-01 は、これまでに、Arai らによる、火星環境でラン藻の生育を行うことを想定した研究の中で、高い乾燥・真空耐性を示すことが証明されており、今後の宇宙環境利用や閉鎖生態系内の利用に高く貢献できる可能性を持つ生物である。今回、様々な過酷環境を想定し、各種過酷環境曝露した乾燥ラン藻の蘇生を指標として、ラン藻の過酷環境耐性実験のための実験系の検討を行ったので発表する。また、高温、UV、ガンマ線、重粒子線による各種曝露直後の乾燥ラン藻の生死判定をラン藻 1 細胞当たりの割合で知るための方法の確立を行ったので紹介する。

## 窒素固定条件下で耐乾燥性に関与する遺伝子を考慮した耐乾燥性ラン藻の有効利用法の検討

### Study of effective utilization of the Nitrogen-fixing terrestrial cyanobacterium based on the desiccation-related genes.

加藤 浩<sup>1\*</sup>

KATOHI, Hiroshi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 三重大・生命セ・植物

<sup>1</sup>Div. Plant Func. Gen., Life Sci. Res. Center, Mie Univ.

陸生ラン藻の類縁株である *Anabaena* sp. PCC7120 を用いて窒素固定条件（窒素飢餓条件）で耐乾燥性能に関与する遺伝子を見出した。遺伝子情報をデータベースで検索した結果、様々なストレス時に応答する遺伝子が含まれていることから、これらの遺伝子が乾燥等の極限環境下で起こる細胞内外の現象に対応するために誘導されていると予想された。更に変化の起こらない光合成系の遺伝子 (*psb28*) を解析したところ耐乾燥性能が失われたことから、光合成の一部が影響を受けることで耐乾燥性能が低下することも明らかとなった。

一方、光合成機能と窒素固定機能が耐乾燥性などのストレス耐性に関与する事が示唆されたことを考慮して、耐乾燥性を持つ陸生ラン藻の有効利用法を検討した。陸生ラン藻は大気中の窒素固定が可能であることから、閉鎖空間においても他の生物が利用困難な窒素を利用する事が可能であり、また光を利用するため大量の養分を必要としない点でも利用価値は高い。窒素固定能力は細胞に窒素固定だけでなくストレス耐性を発揮させる可能性があるため、他の生物との共生も可能であると考えられるので、宇宙農業を含めた栽培技術の開発のために必要な基礎研究を進めている。まず土壤に使えるラン藻を単離して、その生物の培養に成功した。この生物は陸生ラン藻である強い耐乾燥性と窒素固定能力を持つ陸生ラン藻 *Nostoc commune* であり、地域によっては食用とされている。そのため、それ自体を閉鎖系で育てることで十分に土壤改良可能ではあるが、より多くの食料を得られる環境を作るためにラン藻土壌としての可能性を検討した。ラン藻マットで植物栽培を行うと植物に成長阻害が起きず数種類の作物で試した結果、窒素源を常に必要とする植物体に効果がある結果が得られている。しかし、十分な成果を得るにはより多くの複数の植物による栽培実験、陸生ラン藻の大量培養系が必要なため現在も研究を進めている。

キーワード: 乾燥, シアノバクテリア (ラン藻), 遺伝子解析, バイオレメディエーション, 農業, 耐性

Keywords: Desiccation, cyanobacteria, gene analysis, bioremediation, agriculture, tolerance

## 過酷環境におけるトールフェスク とエンドファイトとの相互作用 The interaction between tall fescue and endophyte in severe environments

横島 美香<sup>1\*</sup>, 富田-横谷 香織<sup>2</sup>, 千田 ゆかり<sup>2</sup>, 佐藤 誠吾<sup>2</sup>  
YOKOSHIMA, Mika<sup>1\*</sup>, TOMITA-YOKOTANI Kaori<sup>2</sup>, CHIDA Yukari<sup>2</sup>, SATO Seigo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 筑波大学生物資源学類, <sup>2</sup> 筑波大学生物機能科学専攻

<sup>1</sup>College of agrobiological resource sciences, University of Tsukuba, <sup>2</sup>Graduate school of life and environmental sciences, University of Tsukuba

エンドファイトとは、植物体内の細胞間隙に生息し、植物と共生する微生物である。狭義には、イネ科植物に共生する糸状菌をさす。エンドファイトによる感染で、植物の環境ストレス、病気、害虫に対する耐性が向上することが知られている。エンドファイトと植物の共生系の一つとし *Neotyphodium* と tall fescue (*Festuca arundinacea*) がある。

ここでは、*Neotyphodium* が感染した tall fescue (*F. arundinacea*) を各種過酷環境に曝露させることにより現れる変化・現象を詳細に調べ、エンドファイトと植物との相互作用を理解することを目的とした試みについて説明する。

キーワード: エンドファイト, トールフェスク, 過酷環境

Keywords: endophyte, tall fescue, severe environment

## 閉鎖生態系における有用機能を持つ樹木の応用利用 Utilization of functional woody plant in closed bio-ecosystem

千田 ゆかり<sup>1\*</sup>, 本橋 恭兵<sup>1</sup>, 佐藤 誠吾<sup>1</sup>, 富田-横谷 香織<sup>1</sup>  
CHIDA, Yukari<sup>1\*</sup>, Kyohei Motohashi<sup>1</sup>, Seigo Sato<sup>1</sup>, Kaori Tomita-Yokotani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 筑波大学

<sup>1</sup>University of Tsukuba

閉鎖生態系を設計するとき、樹木は生活材料や食糧など多くの利用価値を持つ。樹木を閉鎖生態系に導入して栽培する時、樹木が他の生物にどのような影響を与えるか検証することが必要である。我々はサクラ属樹木を材料としてアレロパシー活性を評価した。著しく高いアレロパシー活性を示した樹木の葉から得られた抽出物について抗酸化活性とβ-グルコシダーゼ阻害活性を評価したところ、両活性について高い活性を示すことが分かった。さらに分離と精製を行ったところ、両活性を持つ画分の存在を見出した。両活性を示す機能性物質の探索と単離を試みている。両活性は生活習慣病の予防や改善に貢献しうることから、このような樹木を閉鎖生態系に導入すると材木や食糧としてだけでなく機能性食品として利用することができ有用性が高いと考えられることから、その利用価値について考察する。

## ケイ素吸収欠乏イネ変異体 *lsi1* のリグニン分析 Chemical analysis in a silicon uptake-deficient mutant *lsi1* of rice

鈴木 利貞<sup>1\*</sup>, 山畑 梓<sup>1</sup>, 片山健至<sup>1</sup>, 武田 真<sup>2</sup>, 一井眞比古<sup>1</sup>

SUZUKI, Toshisada<sup>1\*</sup>, Azusa Yamahata<sup>1</sup>, Takeshi Katayama<sup>1</sup>, Taketa Shin<sup>2</sup>, Masahiko Ichii<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 香川大学農学部, <sup>2</sup> 岡山大学資源植物科学研究所

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, Kagawa University, <sup>2</sup>Institute of Plant Science and Resources, Okayama University

イネ (*Oriza sativa* L.) は草本植物の中では木質化した茎を持ち、リグニンを 15~25% 含み、さらにケイ素含量が多いことで知られている。ケイ酸はイネの倒伏防止と害虫抵抗性を高めることに役立っている。ケイ酸は根におけるケイ酸トランスポーターにより吸収され、体内に分散されている。食用米品種のオオチカラを変異原処理することによって選抜されたイネ突然変異体 *lsi1* (low silicon rice 1) は、ケイ酸を吸収するケイ酸トランスポーターをコードする遺伝子が欠損した変異株である。このため、*lsi1* はケイ酸を根から吸収することができず、ケイ素の蓄積量が野生株に比べ、著しく減少している。本研究ではイネ突然変異体 *lsi1* におけるケイ素の減少によって、リグニン及びホロセルロースに何らかの変化が生じていると予想し、それら进行分析し、物理学的強度を保つための仕組みを明らかにすることを目的とした。

**【実験方法】** 野生株オオチカラ及び *lsi1* をケイ素無添加土壌 (コントロール) 及びケイ素添加土壌で栽培した。収穫後に茎と葉に分けて Willey mill にて粉碎し、40~80 メッシュに篩い、試料とした。調製した試料のケイ素含量を測定した。試料をマッフル炉で燃焼させた後、48% フッ化水素酸、30% 過酸化水素水及び 69% 硝酸により溶解させた。溶解した溶液をモリブデンブルー法によって発色させ、波長 811nm の吸光度を測定した。次に、試料のホロセルロース含量を次亜塩素酸法により定量した。試料のリグニン含量は Klason 法及びアセチルプロミド法により定量した。続いてリグニンの芳香環組成比 (H,V,S) をニトロベンゼン酸化法で分析した。試料をニトロベンゼン酸化し、酸化分解物をアセチル化後、GC 及び <sup>1</sup>H-NMR で分析した。

**【結果及び考察】** 栽培したイネの草丈を測定した結果、野生株はケイ素添加によって成長が促進され、*lsi1* においてはケイ素添加により成長があまり促進されなかった。さらに、ケイ素の定量の結果、*lsi1* のケイ素含量は野生株と比較して著しく低く、また、ケイ素添加土壌で栽培した *lsi1* においてもケイ素含量は増加したが、増加量は微量であった。ホロセルロース含量及びリグニン含量定量の結果、ケイ素添加土壌ではコントロール土壌と比較して、*lsi1* と野生株共にリグニン及びホロセルロース含量が減少した。また、*lsi1* は野生株と比較してホロセルロース及びリグニン含量が増加していることが明らかとなった。ニトロベンゼン酸化法による分析では、各試料においてリグニン組成比に変化がなかったが、総アルデヒド量は、*lsi1* で野生株に比べ総アルデヒド量が増加していた。これより、ケイ素含量の変化によって *lsi1* では野生株よりもリグニンの非縮合構造が増加している可能性が予想され、リグニン構造に何らかの変化が生じていることが示唆された。

キーワード: リグニン, ケイ素, *lsi1*

Keywords: lignin, silicon, *lsi1*

## 閉鎖系環境評価のための QCM バイオセンサーの開発 Piezoelectric biosensor for the estimation of environments in a closed-ecosystem

安部 智子<sup>1\*</sup>, 鳥井眸<sup>2</sup>, 山名昌男<sup>1</sup>

ABE, Tomoko<sup>1\*</sup>, TORII Hitomi<sup>2</sup>, YAMANA Masao<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京電機大学理工学部, <sup>2</sup> 東京電機大学大学院理工学研究科

<sup>1</sup>School of Science and Engineering, Tokyo Denki University, <sup>2</sup>Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Denki University

水晶振動子は人工水晶から切り出した水晶板の両面に電極を取り付けた形をした素子で、逆圧電効果により一定の周波数で振動する。Quartz Crystal Microbalance (QCM, 水晶振動子マイクロ天秤) は、水晶振動子の電極上に付着した物質の質量に応じて発振周波数が定量的に減少する特性を利用し、ピコグラムからナノグラムレベルの微量な質量変化を発振周波数変化としてモニターすることで質量変化を測定する方法である。QCM は簡便に利用できる微量天秤法として、近年では様々な生体分子 (核酸、ペプチド、タンパク質、糖鎖、脂質単分子膜) の相互作用の検出等に応用されている。

本研究では、微量な付着質量の変化を簡便に計測することが可能な QCM センサーを応用し、微生物や培養細胞などの微量な増殖や挙動の変化を測定する方法を検討した。環境中でリアルタイムに微生物あるいは細胞の増殖挙動を測定出来る簡易センサーの構築を目指しており、本測定法が構築出来れば、閉鎖系内での細胞の挙動を解析するための有効な測定法となり得る。

[実験方法・結果] 溶液に懸濁して濃度を調整した大腸菌および酵母を水晶振動子の電極面に塗布した後、乾燥させ周波数を測定した。試料吸着前と乾燥後の周波数を比較し、乾燥菌体重量による周波数変化を算出した。また、菌の懸濁に用いた溶液のみが蒸発した時点での周波数変化を生菌重量として測定した。 $10^{-8} \sim 10^{-5}$  g までの範囲で乾燥菌体重量および生菌重量どちらも周波数変化に比例しており、この範囲内で QCM センサーを用いた菌体重量測定が可能であることがわかった。また、本実験では QCM システムの金膜電極上でのチャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞の培養を試みた。アクリル製のパイプをシリコンで水晶振動子上に固定し、そこに培地に懸濁した V79 細胞を移し入れた。数時間後、水晶振動子は安定に発振し、培養細胞が金膜上に接着して増殖する様子が確認された。

本研究の一部は平成 20~24 年度文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 (S0801023) の研究費によって支援された。