

Phosphorus adsorption dynamics and retention capacity in agriculture drainage ditch sediments

Phosphorus adsorption dynamics and retention capacity in agriculture drainage ditch sediments

NGUYEN, Van Huy^{1*} ; MAEDA, Morihiro¹
NGUYEN, Van Huy^{1*} ; MAEDA, Morihiro¹

¹Graduate School of Environmental and Life Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-Naka, Kita-Ku

¹Graduate School of Environmental and Life Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-Naka, Kita-Ku

A number of interactions occur between ditch sediment and overlaying water, in which P adsorption is a major process in controlling soluble P concentration in water. Drainage ditches in Kasaoka reclaimed land, Japan is under alkaline conditions (pH >8), because drainage water is diluted with seawater. Our surveys have also demonstrated that ditches were contaminated with high concentration of phosphorus (P). Sediment has a vital role in removing P from discharge water by adsorption. Previous studies have reported sediment P retention capacity under acidic conditions, but little information on phosphorus retention capacity under alkaline conditions was reported. This study aims to evaluate P equilibrium between ditch sediment and overlaying water, and P retention capacity of sediment by determining adsorption parameters under alkaline conditions. Three sub-experiments were carried out in order: (1) adsorption kinetic measurement; (2) adsorption at ambient water P for zero equilibrium P concentration (EPC₀) and P buffering capacity estimation; and (3) sediment P retention capacity determination by using the Langmuir model. Surface sediment (0-10 cm) and overlaying water were collected in three drainage ditches, which receive drainage water from livestock-horticulture area (LHA), livestock area (LA) and grassland area (GLA). In addition, sediment core layers (0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-10 cm) were taken for evaluation of pore water P concentrations. Results showed that pore-water P of LA and LHA increased with increasing the depth layers, whilst GLA sediment decreased. Sediment particle sizes showed a two-third proportion of silt contents. The kinetic adsorption of sediments consisted of two stages that were quick and slow stages regardless of sites. The quick stage was within the first hour of incubation, and slow stage afterward. The LA drainage ditch, which was more contaminated with P, was the highest the sediment EPC₀, followed by LHA, and GLA ditches. The sediment EPC₀ indicated that three ditch sediments act as a sink for P across sediment surface. The Langmuir models were fitted well with experimental data and adequately describe adsorption isotherms of sediments in this study ($r^2 > 0.95$). Phosphorus retention capacity of sediments by maximum adsorption calculations ranged from 384.2-416.7 mg kg⁻¹, binding energy (K) (0.195-0.263 L mg⁻¹). Our results indicate the importance of ditch sediment in controlling P dynamics discharged from agricultural farms.

キーワード: adsorption, Agricultural drainage ditches, sediment, phosphorus, retention capacity
Keywords: adsorption, Agricultural drainage ditches, sediment, phosphorus, retention capacity

宇宙環境下での *Deinococcus* 属細菌の生存可能性?ISSにおける「たんぽぽ」ミッションの宇宙曝露実験に向けて
Survivality of deinococci under space conditions ? Toward the space exposure experiment in "TANPOPO" mission at ISS

村野 由佳^{1*}; 原田 美優¹; 河口 優子²; 橋本 博文²; 小林 憲正³; 中川 和道⁴; 鳴海 一成⁵;
佐藤 勝也⁶; 吉田 聡⁷; 矢野 創²; 横堀 伸一¹; 山岸 明彦¹
MURANO, Yuka^{1*}; HARADA, Miyu¹; KAWAGUCHI, Yuko²; HASHIMOTO, Hirofumi²; KOBAYASHI, Kensei³;
NAKAGAWA, Kazumichi⁴; NARUMI, Issay⁵; SATO, Katsuya⁶; YOSHIDA, Satoshi⁷; YANO, Hajime²;
YOKOBORI, Shin-ichi¹; YAMAGISHI, Akihiko¹

¹ 東京薬科大学・生命科学部・応用生命科学科, ² 宇宙航空研究開発機構・宇宙研, ³ 横浜国立大学・大学院工学研究科, ⁴ 神戸大学・大学院人間発達環境研究科, ⁵ 東洋大学・生命科学部, ⁶ 原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門, ⁷ 放射線医学総合研究所

¹Dept. Applied Life Sci., Sch. Life Sci., Tokyo Univ. Pharm. Life Sci., ²JAXA/ISAS, ³Grad. Sch. Engineer., Yokohama Natl. Univ., ⁴Grad. Sch. Human Develop. Environ., Kobe Univ., ⁵Fac. Life Sci., Toyo Univ., ⁶Quantum Beam Sci. Cen., JAEA, ⁷Natl. Inst. Radiological Sci.

The "panspermia hypothesis" has been proposed as one of the hypotheses on the origin of terrestrial life. In this hypothesis, possible interplanetary migration of microbes has been considered.

To address the question whether interplanetary migration of terrestrial microbes are possible, we have proposed and prepared the space capture and space exposure experiments of terrestrial microbes as two of six sub-themes of "TANPOPO mission" on the Exposure Facility of Japanese Experiment Module "KIBO" of International Space Station (ISS) (Yamagishi et al., 2008). In this mission, we are going to expose microbes in space for one to three (or more) years. There are harsh environmental factors (vacuum, high UV irradiation, ionization radiation, and so on) in space. We have selected the species that show high tolerance to the space conditions.

We are going to use UV- and radiation-resistant deinococcal species: four stains of *Deinococcus radiodurans* (R1, KH311, rec30, and UVS78), *Deinococcus aereus* TR0125, and *Deinococcus aetherius* ST0316. *D. aereus* and *D. aetherius* were isolated from upper troposphere and lower stratosphere, respectively (Yang et al. 2009, 2010). They showed high tolerance to UV and radiation, similar to or higher than *D. radiodurans* R1. In addition, since the DNA repair systems are known to be the keys of high tolerance to UV and radiation in deinococcal species, space survivability of *D. radiodurans* R1 (wild type strain) will be compared with those of the DNA repair deficient mutant strains of *D. radiodurans*, KH311 (deficient mutant strain of *pprA* gene for non-homologous end-joining (NHEJ) repair), rec30 (deficient mutant strain of *recA* gene for homologous recombination), and UVS78 (deficient mutant strain of *uvrE* and *uvrA1* genes for nucleotide excision repair).

In this paper, we summarize survivability of deinococcal species for UV-irradiation, heavy ion-irradiation, high vacuum, and periodical change of temperature. Then, we evaluate survivability of deinococcal species in space after one year.

References

- Yamagishi, A., et al. (2008) *Viva Origino* 36: 72-76
Yang, Y., et al. (2009) *J. Syst. Evol. Microbiol.* 59: 1862-1866
Yang, Y., *Internatl. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 776-779

キーワード: 国際宇宙ステーション, パンスペルミア, 微生物宇宙曝露実験, 「たんぽぽ」ミッション
Keywords: International Space Station, Panspermia, Microbe space exposure experiment, "Tanpopo" mission

Exposure experiments of amino acids and their precursors at the exposure facility on ISS Exposure experiments of amino acids and their precursors at the exposure facility on ISS

癸生川 陽子^{1*}; 三田 肇²; 小林 憲正¹; 橋本 博文³; 今井 栄一⁴; 伊藤 隆哉¹; 金子 竹男¹;
中川 和道⁵; 矢野 創³; 山岸 明彦⁶; Tanpopo Working Group³
KEBUKAWA, Yoko^{1*}; MITA, Hajime²; KOBAYASHI, Kensei¹; HASHIMOTO, Hirofumi³; IMAI, Eiichi⁴;
ITO, Takaya¹; KANEKO, Takeo¹; NAKAGAWA, Kazumichi⁵; YANO, Hajime³; YAMAGISHI, Akihiko⁶;
TANPOPO, Working group³

¹ 横浜国立大学, ² 福岡工業大学, ³ 宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所, ⁴ 長岡技術科学大学, ⁵ 神戸大学, ⁶ 東京薬科大学

¹Yokohama National University, ²Fukuoka Institute of Technology, ³ISAS/JAXA, ⁴Nagaoka University of Technology, ⁵Kobe University, ⁶Tokyo University of Pharmacy and Life Science

Since a diverse suite of amino acids is found in carbonaceous chondrites, exogenous delivery of organic matter could have played an important role for the prebiotic chemical evolution on the early Earth. The interplanetary dust particles (IDPs) are considered to be the major carbon source [1]. However, the organic matter in IDPs is susceptible to the cosmic and solar radiation due to their small nature.

The Tanpopo mission consists of capture experiments and exposure experiments of organic matter and microbes at the Exposure Facility of Japan Experimental Module (JEM) "Kibo" on the International Space Station (ISS), which aims to investigate possible interplanetary migrations of organics and microbes. Here we report the exposure experiments of amino acids and their precursor molecules to the space environment to explore their alteration and survivability.

Selected organic compounds are amino acids (glycine and isovaline), their possible precursors (hydantoin and 5-ethyl-5-methyl hydantoin), and a complex amino acid precursor material synthesized from a mixture of carbon monoxide, ammonia and water by proton irradiation (here after called "CAW"). The amino acid water solutions, hydantoin ethanol solutions, and CAW were put into 3 μ L pits on the exposure panels, and dried under a clean booth. The solid samples were left on the pits ca. 75 nmol each for amino acids and hydantoins, and 15 nmol equivalent to glycine for CAW. Then the samples were covered with hexatriacontane (C₃₆H₇₄) in order to prevent the sample lost during the experiments and transportations. The exposure panels will be launched in this year, and will be recovered after one year, two years and three years of exposure.

[1] Chyba C. and Sagan C. (1992) Nature, 355, 125-132.

Keywords: Tanpopo Mission, origins of life

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 の重粒子線耐性 Tolerance of heavy ions in a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc* sp. HK-01

井上 琴美^{1*}; 木村 駿太¹; 味岡 令子¹; 藤代 華歌¹; 加藤 浩²; 新井 真由美³; 富田-横谷 香織¹;
佐藤 誠吾¹; たんぽぽ ワーキンググループ⁴
INOUE, Kotomi^{1*}; KIMURA, Shunta¹; AJIOKA, Reiko¹; FUJISHIRO, Haruka¹; KATOH, Hiroshi²;
ARAI, Mayumi³; TOMITA-YOKOTANI, Kaori¹; SATO, Seigo¹; TANPOPO, Working group⁴

¹ 筑波大学, ² 三重大学, ³ 日本科学未来館, ⁴ JAXA 宇宙科学研究所

¹ University of Tsukuba, ² Mie University, ³ National Museum of Emerging Science and Innovation, ⁴ JAXA/ISAS

地球上の生物における宇宙環境耐性の検証は、対象生物が他惑星に到達する可能性や環境耐性機能および宇宙利用の可能性を考察する上で不可欠である。現在、国際宇宙ステーション (ISS) で、微生物と生命材料となり得る有機化合物の天体間の移動の可能性の検証を行う実験や、宇宙環境下での微生物の生存の可能性を検討する実験などが候補実験として予定されている (たんぽぽ計画)。これまでに、真空や紫外線などの環境に極めて高い耐性を示す陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 がたんぽぽ計画の候補生物の1種として準備されている。各種宇宙環境耐性要素の中で、とりわけ重粒子線は生物に対して、DNA 損傷や突然変異、染色体異常をもたらす可能性があり、生物の生死に大きく影響する。当株の重粒子線の耐性について、ここで紹介する。

陸棲ラン藻 *Nostoc* sp. HK-01 を材料として用いた。少量の当株乾燥ラン藻を小チューブに分配し、放射線医学総合研究所の重粒子線がん治療装置 (HIMAC) にて重粒子線 (He, Ar) 曝露を行った。

重粒子線曝露した乾燥ラン藻の蘇生確認は Fluorescein diacetate (FDA) を用いて行った。重粒子線曝露ラン藻を滅菌水で加水した後、2日間培養し、FDA 染色後、光学蛍光顕微鏡で細胞の生死の観察を行った。また、同時に増殖機能について検証した。本発表で、本株の高い重粒子線耐性を報告する。

キーワード: ラン藻, 重粒子線耐性, *Nostoc* sp. HK-01

Keywords: Cyanobacteria, Heavy ions tolerance, *Nostoc* sp. HK-01

たんぽぽ計画におけるエアロゲルの生物的汚染管理 Biological contamination control for silica aerogels in the Tanpopo mission

清永 悠介¹; 今仁 順也¹; 佐々木 聡^{1*}; 河口 優子²; 今井 栄一³; 奥平 恭子⁴; 田端 誠⁵; 山岸 明彦⁶; 矢野 創²

KIYONAGA, Yusuke¹; IMANI, Junya¹; SATOSHI, Sasaki^{1*}; KAWAGUCHI, Yuko²; IMAI, Eiichi³; OKUDAIRA, Kyoko⁴; TABATA, Makoto⁵; YAMAGISHI, Akihiko⁶; YANO, Hajime²

¹ 東京工科大学, ² 宇宙航空研究開発機構, ³ 長岡科学技術大学, ⁴ 会津大学, ⁵ 千葉大学, ⁶ 東京薬科大学
¹Tokyo University of Technology, ²Japan Aerospace Exploration Agency, ³Nagaoka University of Technology, ⁴University of Aizu, ⁵Chiba University, ⁶Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

The capture and exposure panels of the Tanpopo mission, in which the panspermia hypothesis and chemical evolution are investigated, are onboard the Japanese Experimental Module (JEM) of International Space Station at about 400 km altitude since this spring. Micrometeoroid space debris and possible terrestrial aerosols are expected to be captured by ultra low-density silica aerogels that would be exposed in space at least one year. After returning back to the earth, the aerogels with "carrot-shaped" tracks formed by hypervelocity impacts of these microparticles should be documented, dissected and delivered to scientists for detailed analysis as soon as possible. During this process, biological contamination as well as chemical one must be avoided (Kiyonaga et al., 2013). Thus, in this study - (1) fabrication of aerogel processing machine called "Yokan Machine", (2) novel evaluation method for biological contamination, and (3) a procedure for pre-flight aerogel surface observation - will be reported from pre-flight simulation in the Tanpopo clean room at ISAS. Time required for the processing of aerogels was estimated from (1). Microbial contamination possibly from human skin during the period was evaluated using several methods including conventional particle counting and chemiluminescence. A novel method using model microbes was also performed. Methods for biological contamination control will be discussed.

Reference

Y. Kiyonaga et al. (2013) Method for Biological Contamination Monitoring During Aerogel Cutting Process in Tanpopo Project Using Bioluminescent Bacteria *Photobacterium kishitani*. In International Astrobiology Workshop 2013, p. 33. LPI Contribution No. 1766, Lunar and Planetary Institute, Houston.

キーワード: たんぽぽ計画, 国際宇宙ステーション, 生物的汚染
Keywords: Tanpopo mission, ISS, biological contamination

粒子線照射により模擬星間物質から生成するアミノ酸前駆体の分析 Analysis of Amino Acid Precursors Formed by Particles Irradiation of Possible Interstellar Media

松田知之^{1*}; 榎本真吾¹; 金子竹男¹; 癸生川陽子¹; 吉田聡²; 福田一志³; 小栗慶之³; 小林憲正⁴

MATSUDA, Tomoyuki^{1*}; ENOMOTO, Shingo¹; KANEKO, Takeo¹; KEBUKAWA, Yoko¹; YOSHIDA, Satoshi²; FUKUDA, Hitoshi³; OGURI, Yoshiyuki³; KOBAYASHI, Kensei⁴

¹ 横浜国立大学, ² 放射線医学総合研究所, ³ 東京工業大学, ⁴ 横浜国立大学, 自然科学研究機構

¹Yokohama National University, ²National Institute of of Radiological Sciences, ³Tokyo Institute of Technology, ⁴Yokohama National University, National Institutes of Natural Sciences

[緒言] 生命の誕生のためにアミノ酸などの有機物は必要不可欠である。1953年にミラーは還元型の原始地球大気を模擬したCH₄, NH₃, H₂, H₂Oの混合ガスに真空放電を行い、アミノ酸が生成することを発見した。しかし、現在では原始地球大気はCO, CO₂, N₂, H₂Oなどからなる弱還元型大気であると考えられており、放電や紫外線によるエネルギーが与えられても生体関連有機物の生成は困難であると考えられている。そこで地球圏外から有機物が導入された可能性が検討されている。現在、隕石や彗星中には多様な有機物の存在が示唆されている。これらの有機物の起源は、分子雲中のH₂O, CO, CH₃OH, CH₄, NH₃などの種々の分子を含む星間塵アイスマントルに宇宙線や紫外線などが作用して生成したと考えられている。我々は模擬星間物質に粒子線を照射した場合、アミノ酸前駆体が生成することを報告している。しかし生成する有機物の生成機構や、構造の詳細は解明されていない。本研究では出発物の組成を変化させたときの生成物やエネルギー収率を調べることでアミノ酸前駆体の生成機構について検討を行った。

[実験] 陽子線照射: 容積約400 mLのPyrex製容器にCOとCH₄の混合ガス(350 Torr, CO:CH₄ = 1:0, 6:1, 2:1, 1:1, 1:2), NH₃ (350 Torr)を入れたものを作製し、超純水5.0 mLをそれぞれ加えた。COのみを用いたものは、そのほかに水を入れないもの、¹³COを原料に用いたものも作製した。これらに対し東工大のタンデム加速器から2.5 MeVの陽子線を2 mC照射した(総吸収エネルギーは3.16 kJ)。生成物は原料にメタンを含まず水を含むものをCAW, 水を含まないものをCA, メタンを含むものをCMAW x:yと呼ぶ。CAWとCMAW 1:1は酸加水分解前後のアミノ酸を、その他は酸加水分解後のアミノ酸を陽イオン交換HPLCで分析した。またCA, CAW, CMAW 1:1に対しては構造解析のためFT-IRを用いた分析を行った。

重粒子線照射: Pyrex製容器にCH₃OH, NH₃, H₂Oをモル比1:1:2.8になるように入れて封管し、放医研のHIMAC重粒子線加速器からの重粒子線を様々な線種(290 MeV/u炭素線など)、照射線量で照射した。また、CH₃OHの濃度を統一してNH₃の濃度を変化させたもの(C:N = 1:1, 2:1, 4:1, 10:1)を作製し、炭素線を照射した。照射生成物は酸加水分解後、陽イオン交換HPLCでアミノ酸を分析した。

[結果と考察] 陽子線照射: 酸加水分解前のCAW, CMAW 1:1からは微量のアミノ酸しか検出されなかったが、酸加水分解後はどのサンプルにおいても様々なアミノ酸が高収率で検出された。CAW(加水分解後)からはGlyが76 pmolと他のアミノ酸と比較して極めて多く検出された。CMAW(加水分解後)ではどの組成においてもGlyの収量は3.5~10.9 μmolとCAWの1/10程度となったが、Alaの生成量が8.2~25.1 μmolとGlyよりも多く生成し、アミノ酪酸類やValなどのより炭素数の多いアミノ酸の収量が増加した。GlyとAlaの生成量はCOの量が多いほど多くなった。一方でCH₄が入っていればCH₄の量に変化してもGlyとAlaの生成量の比は1.2~2.5と大きな差がみられなかった。以上からCOがアミノ酸骨格の生成に大きく寄与したことが分かり、CH₄がアミノ酸側鎖の伸長に寄与したことが考えられる。

FT-IRでの測定の結果、CMAWは炭化水素鎖を持つ化合物ができやすいと考えられる。またCA, CAWにも見られるアミド基のC=Oのピークに加え、CMAWにはカルボン酸、エステルのC=Oに対するピークも確認でき、Nを含まない化合物も多く生成していることが推測される。

重粒子線照射: 重粒子線照射試料(加水分解後)からもグリシンを主としたアミノ酸が検出されたが、グリシンのG値は10⁻⁴~10⁻³オーダーで、陽子線照射実験よりも低かった。サンプル中のアンモニアの比が小さくなるほどアミノ酸の収率は低下した。

[今後の展望] 現在、照射条件を実際の星間環境に近づけた照射実験を計画中である。また、LC-MSでのアミノ酸前駆体の構造調査を行う予定である。

アスパラギン酸の重合形態に及ぼす pH の影響 Effects by pH on the peptide-binding site of two aspartic acid molecules

岡田 陽介^{1*}; 掛川 武¹; 古川 善博¹
OKADA, Yosuke^{1*}; KAKEGAWA, Takeshi¹; FURUKAWA, Yoshihiro¹

¹ 東北大学大学院理学研究科地学専攻
¹ Graduate School of Science, Tohoku University

Proteins, which have important roles as enzymes in many biological reactions, are consisted of 20 kinds of L- α -amino acids. These amino acids are connected with peptide bonds that combine N in α -amino group to C in α -carboxyl group. There are several proteinogenic amino acids containing two carboxyl groups or two amino groups. Even these amino acids, natural peptide bond found in proteins connects the α -amino group to the α -carboxyl group. The regioselective peptide bounding might have been formed in early stage of chemical evolution because reactive side chain of these amino acids are important for basic functions of proteins. In such case, geological setting or geological events must lead the regioselective peptide bound. In this study, we tried to constrain geological setting for regionselectivity using aspartic acid (Asp) as a model amino acid. Asp has α - and β -carboxyl group that have slightly different pKa. To evaluate favorable geological settings for peptide formation with α -carboxyl carbon, we investigated the effects by different pH at high temperature and high pressure simulating difference in pH of pore water in deep-sea sediments. Asp solutions with pH ranging from 1.5 to 12.1 were heated and compressed for 1 – 8 days at 100 °C and 100 MPa. After incubation, the products were analyzed by liquid chromatography mass spectrometry. We also investigated the effects by pH on decomposition rate of Asp to evaluated suitable pH conditions for α -peptide formation. The decomposition rates of Asp were greater in higher pH and the peptides formed were different with varying pH. These results suggest that environments suitable for α -peptide formation were limited by pH.

Keywords: Aspartic acid, pH, peptides formation

タイタンにおける生命存在の可能性－アセチレンを用いた代謝経路を持つ微生物の生存条件 The possibilities for life on Titan - the constraints for methanogenic bacteria with acetylene-based metabolic pathways

池田 さやか^{1*}; 野口 克行¹; 瀬戸 繭美¹; 松尾 玲奈¹
IKEDA, Sayaka^{1*}; NOGUCHI, Katsuyuki¹; SETO, Mayumi¹; MATSUO, Rena¹

¹ 奈良女子大学
¹Nara Women's University

地球では様々な極限環境において微生物が発見されており、これまで考えられていた以上に過酷な環境で微生物が存在し得ることが明らかになってきた。一方、太陽系内の探査の進展や系外惑星の発見に伴い、地球以外の環境における生命の存在について議論がなされている。太陽系内では、火星をはじめとする惑星・衛星において生命が存在する可能性が議論されている。その中でも、土星の衛星であるタイタンは地球と同程度(1.5気圧)の厚さの大気を持ち、大気組成は窒素やメタンをはじめとする様々な有機物である。これらは原始地球の大気組成と似ていると考えられている。また、タイタンではメタンが地球における水と似た役割を担っていると考えられている。例えば、地球大気では水蒸気が温室効果を担っているが、タイタン大気ではメタンがその役割を担っている。また、地球では大気と地表面との間に水循環が存在しているのと同様に、タイタンでは低温のためにメタンが気相だけでなく液相も取り得るおかげで、メタンが大気と地表面を循環していると考えられている。そのため、タイタンではメタンが地球の水の代わりに役割を持つとしてメタンを利用する微生物が存在するのではないかという仮説がある。

タイタン大気には、生命の存在を仮定すると矛盾しない観測事実がいくつかある。まず、タイタン大気に存在するメタンの量は、光化学的寿命を考えると継続的な供給源が必要である。その候補の一つとして、微生物の代謝によるメタンの供給が挙げられている。また、観測されているメタンの炭素同位体比 ($^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$) はタイタンの形成理論から考えられるよりも軽い。地球においては生命起源のメタンは炭素同位体比が軽いため、この観測事実も生命起源であることと矛盾しない。さらに、水素分子濃度の鉛直勾配が光化学モデルで予想されるよりも2倍ほどずれており、地表面で水素をメタンに変換する生命起源の反応が存在するとすれば観測事実を説明できる。

このような問題意識のもと、タイタンにおいて水素を消費してメタンを放出する代謝反応系をもつ微生物の存在の可能性が過去に議論されてきた。微生物がある化学反応系を生命活動に利用するためには、ギブスの自由エネルギー変化が負である必要がある。このような条件を満たす反応系のうち、本研究では最もギブスの自由エネルギー変化が大きい(つまり、最も効率的にエネルギーを取り出すことができる)と期待される化学反応として、アセチレンを水素付加する反応 ($\text{C}_2\text{H}_2 + \text{H}_2 \rightarrow 2\text{CH}_4$) に着目した。このような化学反応を代謝に利用する微生物が存在すると仮定したときに、タイタンの環境下で実際に取り出すことが可能な自由エネルギーを計算した。さらに、Seto [2014] の手法にならってこのような微生物がタイタン環境下で生存可能かを議論した。具体的には、タイタンでの気温・気圧条件下において、ギブスの自由エネルギーと反応速度を掛けたものをエネルギー収入力とし、それよりも生命維持のために必要なエネルギーが小さいとき、生存可能であると定義する。この計算には微生物の各種パラメータが必要であるが、地球上でアセチレンを代謝に用いている微生物のものを参考にした。このような手法を用いて、タイタンで微生物が生存に必要なアセチレン濃度の議論を行なった。

キーワード: タイタン, 宇宙生物学, メタン生成菌, アセチレン, 微生物
Keywords: Titan, astrobiology, Methanogens, acetylene, bacteria

極限環境生命活動評価のための土壌中のアミノ酸分析法の検討 Studies on analytical methods for amino acids to evaluate biological activities in extreme environments

石川 優人^{1*}; 宮本 妃菜¹; 金子 竹男¹; 癸生川 陽子¹; 小林 憲正²; 小川 麻里³;
Navarro-Gonzalez Rafael⁴
ISHIKAWA, Yuto^{1*}; MIYAMOTO, Hina¹; KANEKO, Takeo¹; KEBUKAWA, Yoko¹; KOBAYASHI, Kensei²;
OGAWA, Mari³; NAVARRO-GONZALEZ, Rafael⁴

¹ 横浜国立大学, ² 横浜国立大学、自然科学研究機構, ³ 安田女子大学, ⁴ メキシコ国立自治大学
¹Yokohama National University, ²Yokohama National University, National Institutes of Natural Sciences, ³Yasuda Women's University, ⁴National Autonomous University of Mexico

近年、地球上の様々な極限環境(人間のよく知る一般的な動植物、微生物の生育環境から逸脱するような環境)にも生物活動が知られるようになった。アミノ酸は主要な生体分子であり、地球上の生物活動の評価にアミノ酸濃度を使用できる可能性が考えられる。

極限環境土壌試料に含まれるアミノ酸の濃度は一般的な環境中の土壌に含まれるアミノ酸濃度と比較してとても小さいことがわかっている。そこで、極限環境土壌試料のアミノ酸濃度測定を行う際には、より多くのアミノ酸を土壌から抽出できるような操作が求められる。しかし、抽出可能なアミノ酸量が多くても操作過程におけるブランクが大きくなるとは意味がなく、極限環境試料におけるアミノ酸抽出法には抽出量が多いが操作ブランクは小さいものが求められる。

極限環境試料としてアタカマ砂漠土壌と南極土壌を使用した。アタカマ砂漠土壌は2002年10月に、アタカマ砂漠の西経70°付近において南緯24°~28°の間で採取されたものであり、南極土壌は第49次日本南極地域観測隊によって昭和基地付近で採取されたものである。比較のため、一般的な環境試料として横浜国大キャンパス土壌を使用した。また、操作過程におけるコンタミネーションの評価のために、なにも試料を使わずに試料を使用した時と同じように実験操作を行ったものも用意し、これを操作ブランクとした。

抽出法として大きくフッ酸分解抽出法と熱水抽出法、塩酸抽出法を使用した。

フッ酸分解抽出法は、土壌試料約0.1gを洗浄したテフロン密閉容器に入れ、5M HF-0.1M HClを3mL加えて密閉し、110℃で24時間加熱分解した。これを加熱乾固した後、6M HCl 1mLを加えて110℃で24時間酸加水分解を行った。

熱水抽出法は、土壌試料約0.1gを洗浄した試験管に入れ、超純水1.5mLを加えて封緘し、110℃で24時間加熱した。加熱後、12M HCl 1.5mL加えて110℃で24時間酸加水分解を行った。

塩酸抽出法では、土壌試料約0.1gを試験管に入れ、6M HCl 3mL加えて110℃で加熱し、抽出と酸加水分解を同時にを行った。

酸加水分解後はどちらの方法でも遠心乾燥によりHClを除去した。ただし、フッ酸分解抽出法では酸加水分解後に溶液を試験管に移して遠心乾燥を行った。HClが除去できたら試験管に0.1M HClを加えて残留物を溶解させ、AG-50W-X8で脱塩・分画し、そのアンモニウム画分を試験管に移し再び遠心乾燥を行った。遠心乾燥によって溶媒が除去できたら、残留物に超純水を加えて溶解させ、メンブレンフィルターでろ過後、陽イオン交換HPLC-ポストカラム誘導体化-蛍光検出法でアミノ酸を同定、定量した。

フッ酸分解抽出法と熱水抽出法、塩酸抽出法の結果を比較すると、一般環境試料のように含まれるアミノ酸量が多い試料についてはどちらもほぼ変わらない量のアミノ酸を検出することができた。しかし、極限環境土壌のように含まれるアミノ酸量が少ない試料については検出できたアミノ酸の量に差が生じた。一見するとフッ酸分解抽出法の方が多くのアミノ酸を検出できているように見えるが、ブランクを比較するとフッ酸分解抽出法の方が圧倒的に大きくなっている。つまり、フッ酸分解抽出法によって処理したサンプルで検出できたアミノ酸の少なくない量は試料由来ではないと考えられる。一方、熱水抽出法と塩酸抽出法の場合はブランクの値は小さく、これらの結果についてはほぼ土壌試料由来のアミノ酸のみを検出できていると考えられる。

以上をまとめると、極限環境試料のように含まれるアミノ酸量が少ない土壌試料のアミノ酸濃度測定を行う際は、試料からのアミノ酸抽出法としてブランクの値が小さい熱水抽出法や塩酸抽出法を用いる方が良いと言える。しかし、これらの抽出法については現在の条件が本当にアミノ酸抽出量の一番高い方法であるとは言い切れないので、さらにより条件を探る必要がある。

今後の方針として、逆相HPLCを用いたアミノ酸のD/L比測定の手法を検討し、実際に土壌試料中に含まれるアミノ酸のD/L比測定を行うことを考えている。

キーワード: 極限環境, アミノ酸, 生物活動, 抽出法, 南極, アタカマ砂漠

Keywords: Extreme environment, Amino acid, Biological activity, Extraction method, Antarctica, Atacama Desert

復元した祖先型タンパク質の耐熱性と触媒活性のpH特性 The pH profiles of the catalytic efficiency and thermal stability of resurrected ancestral proteins

笹本 峻弘^{1*}; 赤沼 哲史¹; 別所 瑞萌¹; 横堀 伸一¹; 山岸 明彦¹
SASAMOTO, Takahiro^{1*}; AKANUMA, Satoshi¹; BESSHO, Mizumo¹; YOKOBORI, Shin-ichi¹;
YAMAGISHI, Akihiko¹

¹ 東京薬科大学・生命科学部・応用生命科学科

¹Dept. of Appl. Life Sci., Tokyo Univ. of Pharm. Life Sci.

Little is known about the geological setting of the early earth. However, the method to estimate the ancient environment with genetic information has been emerging (Akanuma *et al.*, 2013). The genetic information of ancestral life has been inherited to its descendants. We can therefore infer the amino acid sequence of an ancestral protein by comparing a huge number of extant amino acid sequences that have evolved from a single common ancestor. Because the amino acid sequence of a protein is encoded by DNA sequence, an ancestral protein's amino acid sequence has been also inherited in its descendants, i.e. extant proteins' sequences. We can estimate the ancient environment by reconstructing an ancestral protein and analyzing its physicochemical properties. In addition, physicochemical properties of a protein have often related to the environment of its host.

We have previously estimate the environment of early life by resurrecting ancestral nucleoside diphosphate kinases (NDKs). The amino acid sequences of ancestral NDKs that might be possessed by the last common ancestors of Archaea and of Bacteria were inferred by phylogenetic analyses. The inferred amino acid sequences were reconstructed by using the genetic engineering techniques. Because the ancestral amino acid sequences fold into extremely thermally stable proteins, we concluded that both archaeal and bacterial ancestors were hyperthermophilic. This conclusion is robust because significantly similar characteristics were observed for the ancestral proteins predicted by several different methods. We also estimated that the last universal common ancestor, the Commonote, was a thermophile or a hyperthermophile that thrived at a temperature above 75 °C (Akanuma *et al.*, 2013).

In the current study, we have attempted to estimate the surface pH of early earth. We analyzed the pH profiles for catalytic efficiency and thermal stability of the ancestral NDKs that might exist 3.5-4.0 billion years ago. The specific activities at 70 °C were determined at pHs ranging from 5.5 to 10.0. All of the ancestral NDKs showed the highest activity at pH 9.5 or 10. The same was true for several NDKs of extant microorganisms that grow optimally at an acidic or neutral pH. Therefore, the optimum pH for catalytic efficiency of a NDK does not reflect its host's environment.

We also analyzed the pH dependence of thermal stability of the ancestral and extant NDKs. The extant NDKs from *Sulfolobus tolodaii* and *Thermoplasma acidophilum*, which grow optimally at acidic pHs, are stable at both acid and neutral pHs. In contrast, the NDKs of *Thermus thermophilus* and *Archaeoglobus fulgidus*, which grow optimally at neutral pHs, showed the greatest thermal stability at a neutral pH (pH 6.0 or 7.6) and less stability at an acidic pH (pH 4.5). Because most of the ancestral NDKs also showed the greatest thermal stability at pH 6.0 or 7.6 and were less stable at pH 4.5, we concluded that the ancient organisms such as the archaeal ancestor, bacterial ancestor and the Commonote lived at neutral pHs. However, we cannot rule out the possibility that the ancient organisms lived at an acidic pH because a few ancestral NDKs showed the greatest thermal stability at pH 4.5.

Akanuma *et al.*, *PNAS* 110 11067-11072

キーワード: 祖先タンパク質復元, コモノート, ヌクレオシド二リン酸キナーゼ, 超好熱菌

Keywords: ancestral protein resurrection, Commonote, nucleoside diphosphate kinase, hyperthermophile

炭酸水の氷の近傍の水のクラスターの観察 Observations of the cluster of water at vicinity of ice in carbonated water

唐澤 信司^{1*}
KARASAWA, Shinji^{1*}

¹ 宮城高専 名誉教授
¹Miyagi National College of Technology, Professor emeritus

炭酸水で、写真1のように多くの微粒子が観察できます。水のラセン構造は平面の相互接続に基づいて垂直の凝集力があり、それが球状の粒子を形成します。炭酸水の粒子は中心部にある氷の上で観察されますが、ほぼ同じ大きさの水のクラスターが液体の表面で観察されます。そのラセン構造を持つ水のクラスターが化学進化の重要な役割を果たすことができます。海の水の表面は化学進化の初期段階の候補です。

炭酸ガスはより低い温度で水に溶解しました。初期原始大気中の二酸化炭素は初期の海に溶解し、泡が二酸化炭素によって生成されました。浮遊物質は大気からの分子と衝突します。分子間結合物質の近隣原子は熱運動によって入れ換えることができます。そして、電子構造には適応性があります。従って、紫外線などの外の世界から来るエネルギーにより浮遊物質から複雑な分子が合成できます。その分子化合物は生成と破壊を繰り返すことによって進化します。泡など浮遊物質は水の表面に蓄積されます。しかし、浮遊物は海の表面に比べて小さく、海には大量の水があります。液体の水は水の分子のクラスターに分割されます。クラスターの生存期間は短いですが、化学反応に貢献します。

写真は反射光の光の下でデジタルカメラ・ペンタックス Optio-W90 を使用して、1 cm の近い距離で撮影しました。ここで、表示倍率は、最大です。また、背景は光を吸収するために黒くしました。微粒子の形状は、静止画像で認識できません。人間の目に映るちらつきは、粒子の素早い変化によって引き起こされます。粒子の動きは毎秒 30 フレームで映画の写真的フレームで観測されました。

炭酸水の氷の近傍での気泡の挙動に関する website “<https://www.youtube.com/watch?v=rgfwzLy-H6A&feature=youtu.be>” をご覧ください。

[写真1]

微粒子が中央の氷で観察され、ほぼ同じサイズの多数の水のクラスターが液体の表面で観察されます。

キーワード: 化学進化, 水のクラスター, ラセン構造, 炭酸水, 気泡, 膜

Keywords: chemical evolution, cluster of water, spiral structure, carbonated water, bubble, membrane

