

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14587

研究課題名(和文)嫌気条件下での酸素発生型光合成のパラドックスを解く

研究課題名(英文)Study on the oxygenic photosynthesis under anaerobic condition

研究代表者

蓑田 歩 (MINODA, Ayumi)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：10597280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：紅藻のシアニディウム類の*Galdieria sulphuraria*が、絶対嫌気条件(-270 mV)でも光合成を行うことをみいだした。同条件では、嫌気性ラン藻*Plectonema boryanum*は、光合成による酸素発生は行わなかった。*G. sulphuraria*のゲノムには、嫌気バクテリアからの多くの遺伝子の水平転移が報告されている。嫌気バクテリアから水平転移により獲得された因子が、*P. boryanum*よりもさらに高度な嫌気条件下での酸素発生型光合成を可能にしていることが予想され、新規の光合成調節機構のメカニズムの解明に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We found that a unicellular red alga, *Galdieria sulphuraria* had the ability to perform oxygenic photosynthesis even at -270 mV of ORP value, which condition is obligatory anaerobic condition. At the obligatory anaerobic condition, anaerobic cyanobacterium, *Plectonema boryanum* could not perform oxygenic photosynthesis. In previous study, many lateral gene transfer from anaerobic bacteria to *G. sulphuraria* has been reported (Schonknecht et al. Science 339, 1207-1210). We also found that some of such factors acquired by lateral gene transfer from anaerobic bacteria would be involved in oxygenic photosynthesis under obligatory anaerobic condition.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：光合成 紅藻

## 1. 研究開始当初の背景

約 27 億年前に原始ラン藻が獲得した嫌気条件下での酸素発生型光合成には、現在の藻類や植物に受け継がれる、多岐にわたる活性酸素除去系の発達 (浅田 2009) 以外に、嫌氣的代謝系と酸素発生型光合成の共存を可能にする、巧みな代謝制御系の存在が予想される。しかし、原始ラン藻は現存しない。

極限環境に生息する紅藻イデユコゴメ類は、100% CO<sub>2</sub> 条件通気条件で光合成を行うことが知られている光合成生物である (Seckbach and Baker 1970)。重要な研究材料の一つであるが、研究の歴史が浅いため、生理学的知見が少ない。申請者は、基礎研究として、培養系や形質転換系の確立など、イデユコゴメ類のモデル生物としての確立に取り組むとともに、バイオマス生産など、その有用な性質を利用した応用研究に渡って、取り組んできた (Matsuzaki et al. 2003, Minoda et al. 2004, 2005, Yagisawa et al. 2004, Imamura et al. 2010, Kanesaki et al. 2012, Miyashita et al. 2014, Minoda et al. 2014)。\*筑波大・JST プレスリリース

最近、申請者は、新たに、嫌気チャンバーを利用した実験系を確立し、絶対嫌気性細菌のみが生息可能な絶対嫌気条件 [酸化還元電位: -270 mV] で、イデユコゴメ類の *Galdieria sulphuraria* を培養すると、酸化還元電位の上昇が起こることを見いだした。そこで、下記の実験を行うことで、嫌気条件下で起こる酸素発生型光合成について明らかにすることを目的として研究を進める。

(1) 絶対嫌気条件下での酸素発生型光合成は今まで報告されていないことから、*G. sulphuraria* 以外に、嫌気性ラン藻 *Plectonema boryanum* で同様の現象が起こるか調べる。

(2) *G. sulphuraria* と嫌気性ラン藻 *P. boryanum* を用いて、絶対嫌気条件下での光合成特性の評価、遺伝子発現と代謝物解析を行う。

## 2. 研究の目的

原始ラン藻が、無限に存在する水を電子供与体とする酸素発生型光合成を獲得したことで生存範囲の拡大に成功すると同時に、現在の好氣的な地球環境の基礎をつくったことは広く知られている。しかし、そこには、それまで嫌気条件下で低濃度に存在する酸素のストレスを回避しながら生きてきた生物が、有毒である酸素を発生するという大きなパラドックスが存在する。

そこで、本研究では、紅藻のイデユコゴメ類 *G. sulphuraria* と嫌気性ラン藻 *P. boryanum* を研究材料として、嫌気条件下での酸素発生型光合成について、嫌気条件下での光合成のメカニズムを (1) 生理学的解析と併せて、(2) 遺伝子発現と (3) 代謝物解析により探る。

## 3. 研究の方法

具体的には、(1) 培養開始時の酸化還元電位の影響、(2) 窒素ガスと CO<sub>2</sub> ガスを利用した嫌気条件下での CO<sub>2</sub> 濃度の影響、(3) 光合成阻害剤 (DCMU) の添加の影響を調べた。

また、(4) 色素分析や (5) クロロフィル蛍光分析と併せて、(6) 蛍光式溶存酸素計による液相の酸素濃度の測定、(7) GC-FID による気相の酸素濃度測定、(8) TOC 計による無機炭素と有機炭素の測定を行った。

#### 4. 研究成果

嫌気チャンバー内で、嫌気状態の酸化還元電位(ORP)のモニタリングを行い、嫌気性ラン藻 *P. boryanum* と紅藻 *G. sulphuraria* の嫌気条件下の光合成について検討をした結果、*P. boryanum* では、絶対嫌気条件(-270 mV)ではORP値の上昇は起こらなかったが、-150 mVでは、ORP値の上昇が起こった。このことから、*P. boryanum* は、嫌気条件(-150 mV)ではある程度の光合成が可能であるが、絶対嫌気条件下での光合成はできないことがわかった(図1)。それに対して、*G. sulphuraria* は、絶対嫌気条件(-270 mV)でも、ORP値の上昇が観察されたことから、*G. sulphuraria* は絶対嫌気条件下でも、光合成を行う可能性が示唆された(図2)。

絶対嫌気条件下でのORP値の上昇について時間を追って検討したところ、6時間以内に、ORPが上昇し、そのまま維持されていることがわかった(図3)。そこで、6時間後の液層の酸素濃度を測定したところ、*G. sulphuraria* を含み、光照射によりORP値の上昇が観察されたボトルでは、*G. sulphuraria* の細胞を含まないボトルに比べて酸素濃度の上昇が観察されたことから(図4)、*G. sulphuraria* は、絶対嫌気条件下で光合成を行っていると考えられた。また、このORP値と酸素濃度の上昇は、光合成阻害剤のDCMUによって阻害されたことから、光合成に由来するものであった。

そこで、*P. boryanum* と *G. sulphuraria* の嫌気条件下での光合成についての遺伝子発現解析について経時的に検討し、現在データ解析中である。*P. boryanum* は、-150 mVでの光照射、*G. sulphuraria* は、-270 mVでの光照射を行った。また、LC-MS/MS解析により、嫌気条件下で機能すると思われる候補因子

をいくつかみいだした。

*G. sulphuraria* のゲノムには、嫌気バクテリアからの多くの遺伝子の水平転移が報告されている(Schonknecht et al. Science 339, 1207-1210)。嫌気バクテリアから水平転移により獲得された因子が、*P. boryanum* よりもさらに高度な嫌気条件下での酸素発生型光合成を可能にしていることが予想され、新規の光合成調節機構のメカニズムの解明に繋がることが期待される。

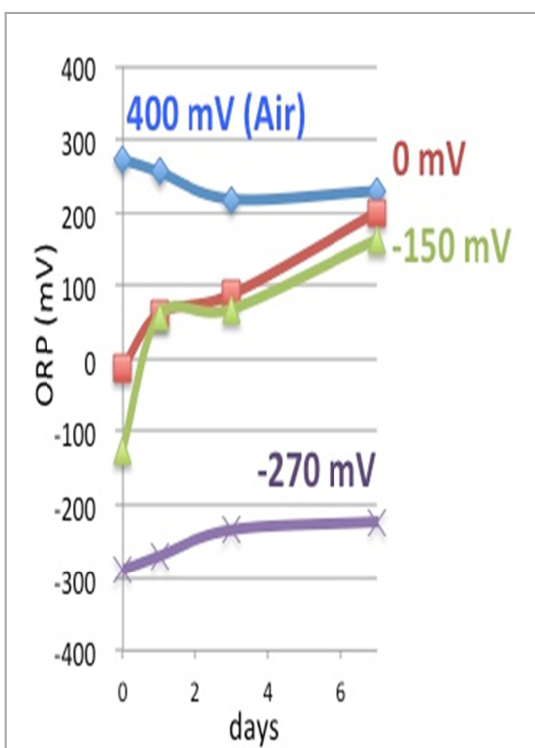


図1 嫌気条件(-150 mV, 0 mV)、絶対嫌気条件(-270 mV)、通常大気条件(400 mV)での *P. Boryanum* の培養のORP値の変化

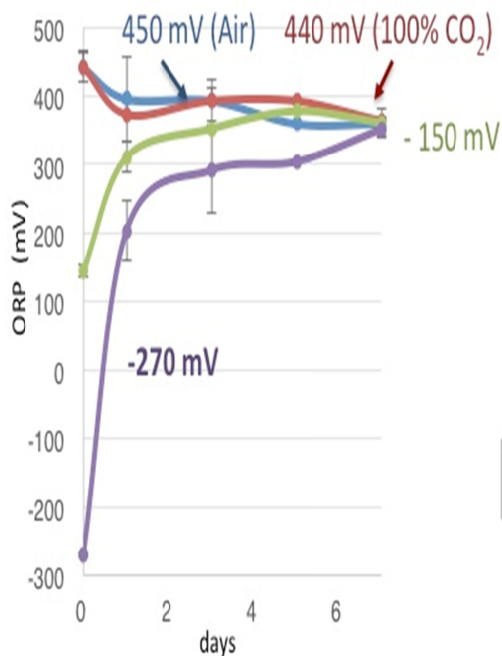


図2 嫌気条件(-150 mV, 0 mV)、絶対嫌気条件(-270 mV)、通常大気条件(400 mV)での *G. sulphuraria* の培養の ORP 値の変化

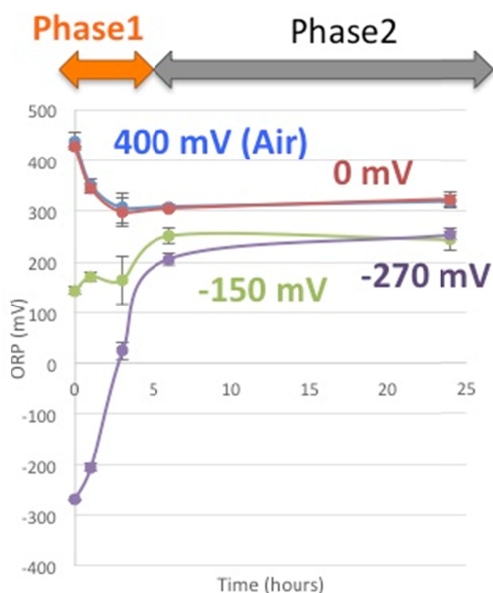


図3 嫌気条件(-150 mV, 0 mV)、絶対嫌気条件(-270 mV)、通常大気条件(400 mV)での *G. sulphuraria* の培養の ORP 値の経時的変化

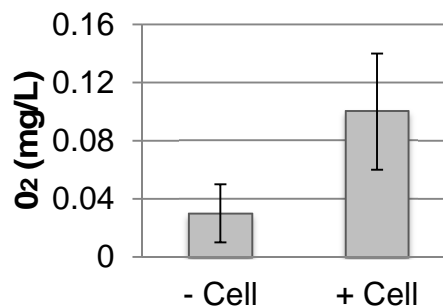


図4 絶対嫌気条件(-270 mV)で、*G. sulphuraria* を含むボトル(+ Cell)と含まないボトル(-Cell)に光照射 6 時間後のボトル中の液層の酸素濃度(mg/L)の変化

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者は下線)

[雑誌論文](計2件)

1. Ju, X. <sup>#</sup>, Igarashi, K., Miyashita, K., Mitsuhashi, H., Inagaki, K., Fujii, S., Sawada, H., Kuwabara, T. and Minoda, A. <sup>#</sup> (2016) Effective and selective recovery of gold and palladium ions from metal wastewater using a sulfothermophilic red alga, *Galdieria sulphuraria*. *Bioresource Technology*. 211, 754-766 [査読有] \*Corresponding author, <sup>#</sup>equally contributed <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.061>
2. Sakurai, T. <sup>#</sup>, Aoki, M., Ju, X., Ueda, T., Nakamura, Y., Fujiwara, S., Umemura, T., Tsuzuki, M., and Minoda, A. <sup>#</sup> (2016) Profiling of lipid and glycogen accumulations under different growth conditions in the sulfothermophilic red alga *Galdieria sulphuraria*. *Bioresource Technology*. 200, 861-866. [査読有] \*Corresponding author, <sup>#</sup>equally contributed <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.014>

〔学会発表〕(計3件)

1. Ju, X., Itoh, M. and Minoda, A.  
Characterization of photosynthesis in *Galdieria sulphuraria* under high CO<sub>2</sub> condition. 日本化学会春期大会 同志社大学 (京都府 京田辺市) 2016/3/24-26
2. Minoda, A.  
Selective recovery of gold and palladium ions from metal wastewater using a sulfotrophophilic red alga *Galdieria sulphuraria*, Algae Europe 2015, SANA Lisboa Hotel (Lisbon, Portugal) 2015/12/1-3
3. 蓑田 歩・澤田 仁美  
硫酸性温泉紅藻 *Galdieria sulphuraria* を利用したネオジム磁石廃材からの希土類の溶出と回収 第16回極限環境生物学会 東京海洋大学 2015/11/8-9 (東京都 港区)

〔図書〕(計4件)

1. 蓑田 歩 (2017) 硫酸酸性温泉に生息する紅藻による希土類・貴金属の選択的回収, バイオサイエンスとインダストリー誌 Vol.75, No.3, 244-245. (財)バイオインダストリー協会
2. 蓑田 歩 (2016) 100%二酸化炭素という極限における光合成の可能性 -紅藻イデユコゴメ類の産業利用の可能性- 配管技術 58, p.16-22. 日本工業出版(株)
3. 蓑田 歩 (2015) 100% CO<sub>2</sub> という極限における光合成の「未知」化学と工学 68巻 p.709-711. (公)化学工学会
4. 蓑田 歩 (2015) 循環型エネルギーを利用した硫酸性温泉紅藻によるレアアース

回収システム バイオベース資源確保戦略(小西康裕監修)p.169-175. CMC 出版

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)  
名称:金属回収剤、金属化合物回収剤、及び、金属又は金属化合物の回収方法  
発明者:蓑田 歩・王 曉瞬・佐藤 真由美・山本 里恵  
権利者:(株)ガルデリア  
種類:特許  
番号:特願 2017-35532  
出願年月日:2017年2月28日  
国内外の別:国内  
  
名称:金属選択回収剤、金属溶出用組成物、金属製造方法、および、金属溶出方法  
発明者:蓑田 歩  
権利者:(株)ガルデリア  
種類:特許  
番号:特願 2017-35532  
出願年月日:2017年2月28日  
国内外の別:国内

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
蓑田 歩 (MINODA, Ayumi)  
筑波大学・生命環境系・助教  
研究者番号:10597280