

光合成細菌の細胞外物質の保存における光脱色反応の影響

Effect of photodecolorization on conservation of extracellular material from photosynthetic bacteria

0540404 伊藤瑞希, 大瀧雅寛

Mizuki ITO and Masahiro OTAKI

お茶の水女子大学大学院 人間文化研究科 ライフサイエンス専攻

1 はじめに

可視光照射において、光合成細菌である *Rhodobacter sphaeroides* は、染料の脱色反応を行うことがわかっている。この光合成細菌が菌体外に分泌する細胞外物質にも、染料をはじめ一般排水二次処理水の脱色効果を持つことがわかっている。この細胞外物質による染料の脱色反応は、対象とする染料の構造式によって、反応機構が依存することもわかっている¹⁾。

本研究では、光合成細菌細胞外物質の光脱色反応の高圧蒸気滅菌による影響を調べることにした。これは、今までの研究で細胞外物質が分子量 3,000 以下であることがわかっているが、本当にこの脱色反応が酵素反応によるものではないかを調べるためである。また、同時に pH の影響を調べることにした。

細胞外物質溶液は、光合成細菌と異なり、保存が可能であると考えられる。保存性について常温保存の可能性及び、脱色能力を維持できる保存期間について調べた。

2 タンパク酵素^{2) 3)}

酵素とは、生体細胞により生産される高分子量の有機触媒である。酵素は、1833 年に発見され、今日では、1500 以上の酵素が知られており、数百が結晶化されている。酵素は、生体触媒であることから、作用は一般の触媒と同じである。そこで、タンパク酵素の一般的性質の特有として、以下の点が上げられる。

- ・ 特異性がある
- ・ 反応速度が化学触媒と比べて速い
- ・ 至適温度が存在する
- ・ pH 依存性が存在する

これらの特有な性質の要因は、酵素の変性によるものである。至適温度については、酵素自体の活性は、温度とともに増大するが、同時に熱変性による失活の割合も増加するので、至適温度を越えると反応速度は急激に低下することとなる。至適温度においても、失活は起こっていて、長時間反応を行う際には問題となる。至適温度はおおむね 30~40℃である。また、タンパク質は両性電解質であるため、pH によってイオン化状態が変化し、活性に影響を及ぼす。しかし、タンパク質が強い酸や塩基によって変性を起こすので、酵素活性の至適 pH は中性付近である。

3 滅菌

滅菌とは、すべての微生物を死滅、除去することである。滅菌法には、加熱法、濾過法、照射法、ガス法、薬液法などが存在する。その中でも加熱法のひとつである高圧蒸気滅菌は、被滅菌物としてガラス製品や金属製、液体、培地などに幅広く適用されている。一般的な滅菌条件として、温度摂氏 121℃、20 分で行う方法があり、実験では、この条件で行った。

タンパク酵素の性質から、温度、圧力、pH を変化させることによって、細胞外物質溶液の脱色反応が酵素反応かどうかについて情報を得ることができる。

4 実験方法

光合成細菌を単離培養し、5,800 rpm で約 4 分間遠心分離させ、上澄みだけを分取した。この溶液を濾過（孔径 0.45 μm）して細胞を完全に除去した濾液を細胞外物質溶液として実験を行った。

4.1 高圧蒸気滅菌実験

細胞外物質溶液に高濃度の NaOH, を加え, pH を 11.8 に調整した. また, 無調整の細胞外物質溶液 (pH7.8) も使用した.

pH 調整した各溶液 10 mL を高圧蒸気滅菌 (120°C, 20 分) 行い, その後濃度 1,000 mg/L の染料 Acid Blue92 を (以下 AB92 と略す) を 0.2 mL 加えた. 蛍光灯による可視光照射下, 37°C で実験を行った. また, 時間経過ごとに各溶液の吸光ピーク値を測定した.

4.2 保存実験

細胞外物質溶液を 10 mL ずつ分取し, 高圧蒸気滅菌 (121°C, 20 分) 行った.

常温保存, または冷蔵保存し, 2 週間, 4 週間と保存し, 以下の手順を行った.

各細胞外物質溶液 10 mL に濃度 1,000 mg/L の染料 AB92 を 0.2 mL 加えた. 蛍光灯による可視光照射下, 37°C で実験を行った. また, 時間経過ごとに各溶液の吸光ピーク値を測定した.

5 実験結果

5.1 高圧蒸気滅菌実験

Fig.1 に AB92 の脱色率を示す. 脱色率は, 各計測時の吸光度値を 0 h の吸光度値で除し, 百分率で表したものである. 図より pH が高いほど脱色反応が速いことが言える. しかし, 各 pH において滅菌の有無によって反応速度の違いは生じなかった. このことから, 細胞外物質溶液による脱色反応は, 耐熱性がある物質によるものであり, タンパク酵素反応によるものではないと考えられる.

5.2 保存実験

Fig.2 に細胞外物質溶液の保存による AB92 の脱色率を示す. 図より, 速度に多少差があるものの, 保存方法や期間に関わらず, AB92 の脱色率は変わらなかった. どの場合も 24 時間後には 90% 以上の脱色率をもつことがわかった. このことにより, 少なくとも細胞外物質溶液の状態ですぐ 1 ヶ月間保存することが可能であることがわかった. また, 脱色反応を起こしている物質は, 劣化が起こらないことから, 今後も, 定期的に期間をおいて保存実験をする予定

である.

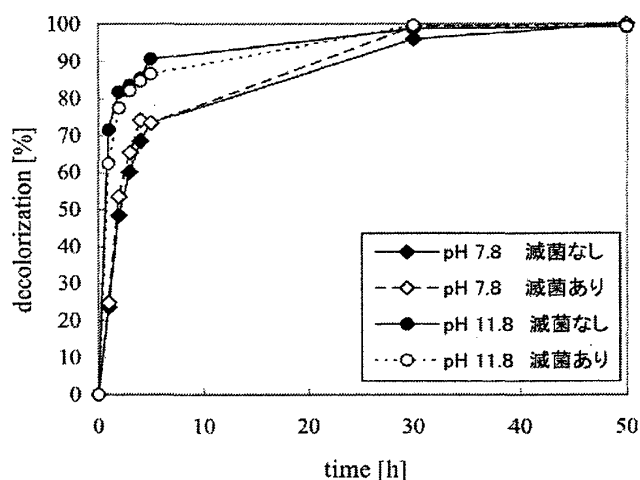


Fig.1 Decolorization ratio of AB92

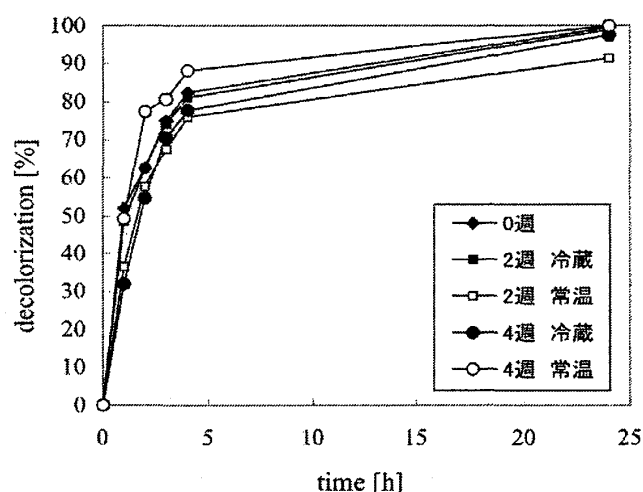


Fig.2 Decolorization ratio of AB92

6 まとめ

細胞外物質溶液による染料脱色反応は, タンパク酵素反応によるものではないと考えられた.

光合成細菌を取り除いた, 細胞外物質溶液の状態ですぐ保存し, 脱色反応に影響を与えないことがわかった.

7 参考文献

- 1) 伊藤瑞希 平成 16 年度 卒業論文 光合成細菌の細胞由来物質による排水の光脱色反応
- 2) D. VOET 他 東京化学同人 ヴォート基礎生化学
- 3) 北尾高嶺 コロナ社 生物学的排水処理工学