

D113

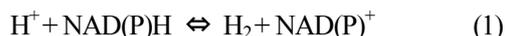
D-グルコース水溶液内藍色細菌水素生成反応に及ぼす反応条件の影響

(東工大院) (学)山元 崇史・○(正)浅見 和広・(正)太田口 和久*

緒言

現在、水素(H₂)は燃焼生成物に二酸化炭素(CO₂)を含まないエネルギー源として注目されている。現在の H₂ 製造で主に用いられている水蒸気改質法は、原料が有限な資源である化石燃料であり、副生成物として CO₂ を大量に生成するため、ライフサイクルアセスメントの観点からすると CO₂ 生成量を削減するような代替技術の開発が重要と考える。

本研究では藍色細菌を用いた H₂ 生成法に注目した。藍色細菌は光合成により大気中の CO₂ を固定し増殖と還元力の蓄積を行い、特定の条件下においてその還元力から H₂ を生成する。藍色細菌の持つ酵素、双方向型ヒドロゲナーゼは以下のような反応を触媒し H₂ を生成する。



ここで補酵素 NAD(P)H は菌体内還元力指標であり、菌体内の酸化還元バランスが還元側に傾くことが H₂ 生成を促進すると報告されている。

本研究では、藍色細菌 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 を供試菌とし、H₂ 生成反応を活性化させるための条件探索を行い、H₂ 量産に繋がる技術開発上の知見を得ることを目的とした実験の成果について報告する。本研究室では暗所嫌気条件下で H₂ が生成する際に反応液へ D-グルコースを添加することによって、ラグタイムの後、H₂ 生成反応が高活性化されることを見出した。そこで、この高活性化に対して培養時の栄養状態、H₂ 生成時の反応液 pH の影響の検討を行った。さらに高活性化時のヒドロゲナーゼ活性についても検討した。

1. 実験方法

(1) 使用菌体

Synechocystis sp. strain PCC6803 株は東京大学分子細胞生物学研究所より分譲戴いた。この菌体は D-グルコースによっても生育できる特殊な光合成生物である。

(2) 実験条件

H₂ 生成には、*Synechocystis* sp. strain PCC6803 を生体触媒として使用した、生体触媒は光合成菌体増殖に依って調製した。生体触媒調製段階では試験管に BG-11 培地 70 mL を入れ、実験条件に応じて D-グルコースを添加した。*Synechocystis* sp. strain PCC6803 を植え付け 307K に保った恒温槽中で白色光を照射し、6%CO₂ ガスを通気させ、対数増殖後期まで光合成させ生育させた。H₂ 生成段階では生育した菌体を遠心分離によって回収し、バッファー水溶液、実験条件に応じて D-グルコース溶液を加え、菌体濃度 2.0 gL⁻¹、全量 10 mL とし試験管に入れ、気相を N₂ ガスで置換し、307 K 恒

温振盪槽中で嫌気、遮光条件で反応させた。

(3) 測定項目

H₂ 生成段階における菌体濃度、反応液 pH、反応器気相中 H₂ 濃度をそれぞれ分光光度計、pH メーター、ガスクロマトグラフィーを用いて測定した。

2. 実験結果および考察

D-グルコース代謝をより活性化させる目的で光合成混合栄養培養により調製した菌体で H₂ 生成を行わせた。この際僅かにラグタイムの減少がみられたが、独立栄養培養により調製した菌体と H₂ 生成の様子に大きな差異はみられなかった。

次に、反応液の初期 pH を変えて H₂ 生成を行わせたところ、初期 pH 8.2、7.7、6.0 の各条件とも H₂ 生成高活性状態が観察された(Fig. 1)。初期 pH 8.2 の条件では初期 pH 7.7 の条件の 2.0 倍の H₂ 生成量が確認された。pH の経時変化の様子が大きく異なっていたことから、pH の違いが D-グルコース及び菌体内グリコーゲンの代謝経路と還元力の生成に大きな変化を齎したと考えられる。

また、酵素ヒドロゲナーゼの発現状態について検討すべく、メチルビオロゲンを反応液に加えることによって人為的に還元力を供給し、メチルビオロゲン依存ヒドロゲナーゼ活性($\sigma_{\text{HG,MV}}$)を測定した。反応液中の D-グルコースの有無に関わらず、 $\sigma_{\text{HG,MV}}$ は時間とともに増加した。これは暗所下においてヒドロゲナーゼの活性中心である Ni²⁺ を取り込むトランスポーターが稼働し始めたからであると考えられる。一方、菌体内の還元力に依存するヒドロゲナーゼ活性(σ_{HG})と $\sigma_{\text{HG,MV}}$ の値は違った挙動を示した。これにより、実際の H₂ 生成にはヒドロゲナーゼ発現量よりも還元力の供給に関する検討がより重要であることが示されたと考えられる。

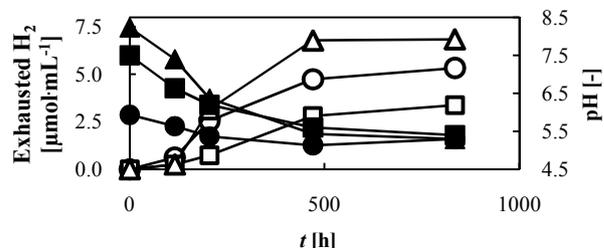


Fig. 1 The time courses of the amounts of exhausted H₂ (open) and pH in reaction mixtures (closed). The values of initial pH were 8.2 (Δ), 7.7 (□), 6.0 (○).

* ohtaguchi.k.aa@m.titech.ac.jp