

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		メタルバイオテクノロジーを利用した地熱発電の多次元利用技術の創製			
研究テーマ (欧文) AZ		Multidimensional approach of geothermal generation with metal biology			
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓)ドイ	名)カツミ	研究期間 B	2012 ~ 2013 年
	漢字 CB	土居	克実	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	Doi	Katsumi	研究機関名	九州大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		九州大学大学院農学研究院・講師			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>シリカは地殻中に最も多く存在する化合物であるにもかかわらず、生体分子との相互作用に関する知見は少ない。また、地熱発電所に形成されるシリカ沈殿物(シリカスケール)中には多数の微生物構造が見られ、微生物により沈殿形成が促進されていることが推測されるが、微生物によるシリカ鉱物化機構は殆ど解明されていない。本研究より、シリカスケールから分離した <i>Thermus thermophilus</i> TMY は、過飽和シリカ含有培地中で非晶質シリカ沈殿を生成することが明らかとなった。過飽和シリカは菌の生育を阻害しないものの、細胞表層に著量のタンパク質発現を引き起こした。本タンパク質はシリカ刺激に応答し発現することから Sip (silica-induced protein) と命名し、同様の誘導産生が <i>T. thermophilus</i> HB8 を含む <i>Thermus</i> 属細菌で幅広く観察できた。</p> <p>そこで、過飽和シリカ刺激に応答する遺伝子群を転写レベルで網羅的に解析し、特に細胞のシリカ刺激受動と刺激シグナル伝達機構を解明した。まず、過飽和シリカ、鉄欠乏培地中で培養した細胞中での遺伝子の発現プロファイル DNA microarray 解析により、解明した。過飽和シリカ存在下、培養 60 分後においては、sip に相当する TTHA1628 及びその下流遺伝子(TTHA1629、TTHA1630)の転写量の増大が見られた。また、HB8 株が保有するメガプラスミド pTT27 上の TTHB215~222 の遺伝子クラスターも同様に転写増大されていた。TTHA1628~1630 は鉄取込みに機能する遺伝子群と推定されており、一方 TTHB218~220 はヘム鉄の取込みに関与する遺伝子群と推定されている。培養 60 分後において転写増大された遺伝子群のパターンはシリカ添加、鉄欠乏時と共に類似しており、シリカ添加によって HB 株細胞では鉄欠乏が引き起こされていたものと推察された。また、培養 15 分後におけるアレイデータから、培養細胞においても TTHA1628、TTHB220 など鉄輸送に関わる遺伝子群の転写量の増大は確認できたが、シグナル伝達に関与するような遺伝子の転写増大は認められなかった。これらのことより、Sip の発現誘導はシリカ刺激に対して特異的に起こるものではなく、シリカ添加による鉄欠乏に起因し、鉄濃度依存的な転写制御タンパク質 Fur によって制御を受けていることが判明した。これは鉄イオンが正に帯電しているのに対し、シリカが負に帯電している為、静電的相互作用によりシリカが鉄と結合して菌体にとって鉄飢餓を生じているものと推察した。</p> <p>この Fur 制御を利用して、大腸菌におけるシリカ誘導タンパク質発現システムを構築した T5 プロモーターを用いた発現系では、シリカ誘導は確認できたものの、基底レベルでの発現量も大きく、基底レベルの発現量を抑える必要があったが、lac プロモーター:Fur オペレーターを用いた発現系では、シリカ誘導を行った場合に発現量の増加が確認され、非誘導時の leaky な発現が強く抑えられており、シリカを誘導剤として用いることができる他、毒性タンパク質の発現生産にも応用できると考えられた。また、鉄のキレート剤を用いるよりもシリカを用いた条件下で発現量が高くなることも判明した。さらに、本系は自然誘発的な発現を誘導することから、従来までの発現誘導操作を簡略化することも可能と考えられた。</p> <p>さらに、地熱熱水からシリカスケールの原因物質であるケイ酸をケイ酸カルシウムおよびケイ酸マグネシウムとして除去する方法、それを原料として付加価値の高い高純度メソポーラスシリカを合成する方法を開発した。加えてケイ酸を除去した地熱熱水からリチウムを回収するシステムを開発した。</p>					
キーワード FA	高度好熱菌	シリカスケール	タンパク質発現	<i>Thermus</i>	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>	土居克実、大島敏久							
	書名 <sup>HC</sup>	環境と微生物の事典							
	出版者 <sup>HB</sup>	朝倉書店	発行年 <sup>HD</sup>	2	0	1	4	総ページ <sup>HE</sup>	448
図書	著者名 <sup>HA</sup>	Katsumi Doi and Yasuhiro Fujino							
	書名 <sup>HC</sup>	Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles							
	出版者 <sup>HB</sup>	Springer	発行年 <sup>HD</sup>	2	0	1	3	総ページ <sup>HE</sup>	954

欧文概要 EZ

Biom mineralization is that various organisms internally or externally produce inorganic minerals as biominerals such as bones, teeth, shells, and invertebrate exoskeletons. The magnetites, iron deposits, gold deposits, calcium carbonates, calcium phosphates and silicates are well-known examples of the biominerals. Although silica is the most abundant compound in the earth's crust and its precipitation is an important geological process in many geothermal environments, it is nothing but useless for microorganisms, especially for bacteria. Recently, research revealed that both inorganic chemical reaction and microbial activity be implicated in the formation of siliceous deposits. This chapter review the siliceous deposits formed with thermophilic bacteria in the geothermal environments.

The extreme thermophilic bacteria within the genera *Thermus* which is predominant components among the indigenous microbial community in siliceous deposits formed in pipes and equipment of geothermal power plants contribute to the rapid formation of huge siliceous deposits. In vitro examination suggested that *Thermus* cells induced the precipitation of supersaturated amorphous silica during the exponential growth phase, a silica-induced protein (Sip) was isolated from the cell envelope fraction. The amino acid sequence of Sip was similar to that of the solute-binding protein of the Fe<sup>3+</sup>-binding ABC transporter.

Furthermore, Sip promotes silica deposition on the surfaces of cells, after which the silicified outer membrane may serve as a "suit-of-armor," conferring resistance to peptide antibiotics. Dissolved silica in geothermal hot water may be a significant component in the maintenance of position and survival of microorganisms in limited niches. As just described, thermophilic bacteria use biosilicification for their own survival.