

京都大学	博士（農学）	氏名	滝村 修
論文題目	微生物による重金属化合物の取り込みと変換に関する研究		
(論文内容の要旨)			
産業で使用される重金属は、単体、合金、さらには有機金属化合物など多種・多様であり、ヒ素、カドミウム、有機スズなどの有害重金属化合物も含まれている。これら有害重金属化合物の環境中への放出は、生態系に悪影響を及ぼす場合がある。本研究は、微生物についてヒ素やスズなど有害重金属化合物の取り込みと変換反応を検討し、微生物による重金属化合物の処理技術に関する基礎的知見を得ることを目的とした。 まず、ヒ素耐性能を有する微細緑藻 <i>Dunaliella</i> sp. のヒ素蓄積特性を検討した。実験の結果、<i>Dunaliella</i> sp. は pH8～9、温度 20℃、塩化ナトリウム濃度 20 g・l⁻¹ の条件で、ヒ素蓄積能が高いことがわかった。次に、ヒ酸と銅イオン、ヒ酸とコバルトイオンの共存下において、<i>Dunaliella</i> sp. は銅、コバルト濃度の増加と共に増殖阻害を受け、ヒ素蓄積も両者の影響を受けた。また、<i>Dunaliella</i> sp. のヒ酸取り込みは溶液中のリン酸に影響され、両者の蓄積はお互いに拮抗することがわかった。さらに、蓄積されたヒ素の細胞内での分布と化学種の間係を調べた結果、<i>Dunaliella</i> sp. のヒ素蓄積は生細胞で認められ、取り込まれたヒ素の 85 %が水溶性画分に分布していた。また、<i>Dunaliella</i> sp. はヒ酸で増殖阻害を受けるが、亜ヒ酸ではあまり増殖阻害を受けなかった。一方、溶液中のヒ素化学種を調べた結果、試水にはヒ酸を添加したにもかかわらず亜ヒ酸が確認された。これらのことから、<i>Dunaliella</i> sp. はヒ酸を取り込み細胞内で亜ヒ酸に還元・低毒化した後、一部を細胞外に放出することが示唆された。 新たに培養する必要のある <i>Dunaliella</i> sp. に対し、酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> は発酵産業等で大量に生産されている。酵母バイオマスを重金属処理に利用する可能性を検討するため、<i>S. cerevisiae</i> の増殖に及ぼす銅、クロム、およびヒ素の影響と細胞内への取り込みを調べた。<i>S. cerevisiae</i> の増殖は、銅よりもクロムに強く阻害作用を受け、銅とクロムの共存による増殖阻害も認められた。細胞内への蓄積量はクロムより銅の方が多く、銅の吸着も示唆された。<i>S. cerevisiae</i> は重金属の種類・濃度によって増殖阻害の程度が異なり、濃縮される量も異なることがわかった。 さらに、生物毒性が強く、分解されにくいとため、船底塗料に混ぜて防汚剤として使用されていた有機スズ化合物に着目した。トリフェニルスズ (TPT) からジフェニルスズ (DPT)、さらにモノフェニルスズ (MPT) への変化は、生物毒性を軽減することが認められている。そこで、従属栄養細菌について、TPT 分解活性を用いたスクリーニングを行った結果、新奇 TPT 分解細菌として <i>Pseudomonas chlororaphis</i> CNR15 株を単離した。本菌株はピオベルディンを分泌し、TPT を DPT 経由で MPT に分解することが明らかとなった。このピオベルディンを効果的に作用させるため、<i>P. chlororaphis</i> を固定化してピオベルディンの持続的放出を試みた。その結果、<i>P. chlororaphis</i> を固定化したビーズは、菌体を固定化しないビーズに比べ高濃度に TPT を吸着することがわかった。そして、<i>P. chlororaphis</i> 固定化ビーズを用いた TPT 分解において、TPT から DPT さらに MPT への分解が認められ、その分解は温度及び pH に影響を受け、それぞれ 30℃、pH8.8 で高い分解活性を示した。固定化法により、持続的なピオベルディンの放出が少なくとも 1 ヶ月以上持続し、TPT を DPT や MPT に連続的に分解できることがわかった。 本研究は水圏環境中の有害重金属化合物の処理を目的として、まず微細緑藻 <i>Dunaliella</i> sp. や酵母 <i>S. cerevisiae</i> における重金属化合物の吸着や吸収を検討した。<i>Dunaliella</i> sp. はヒ酸を取り込み細胞内で亜ヒ酸に還元したのち細胞外に放出すること、			

S. cerevisiae の増殖は銅よりクロムに強く影響を受けることなどが分かった。さらに、有機スズ化合物の分解・低毒化微生物を探索し、新奇 TPT 分解細菌 *P. chlororaphis* CNR15 株を見出し、固定化法により分解作用を 1 ヶ月以上持続させることが可能となった。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 38 字×36 行で作成し、合わせて、3,000 字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 words で作成し
審査結果の要旨は日本語 500～2,000 字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

重金属化合物の一部は微量で生体必須を示すが、ある濃度以上では有害性を示し、生態系に悪影響を及ぼす場合がある。本論文では、微生物による水圏環境中の重金属化合物処理技術の開発を目的に、有害重金属化合物を曝露して、各種微生物が有する吸収・変換特性を検討した。さらに、有機スズ化合物の簡易定量法を開発して分解細菌をスクリーニングにより見出し、固定化法を用いた処理法の可能性を示した。その主な成果は以下の3点に大別できる。

(1) 微細緑藻 *Dunaliella* sp. を用い、ヒ素添加初期における応答と藻体内への取り込みを検討し、*Dunaliella* sp. が有する対数増殖期の高濃度ヒ素蓄積、ヒ素蓄積のための最適環境条件、細胞内変換及びヒ素蓄積に及ぼす他元素の影響を明らかにした。*Dunaliella* sp. のヒ素蓄積に及ぼすリンの影響について調べた結果、*Dunaliella* sp. のヒ酸取り込みは溶液中のリン酸濃度に影響を受け、両者の蓄積はお互いに拮抗することがわかった。*Dunaliella* sp. は、ヒ酸を取り込み細胞内で亜ヒ酸に還元・低毒化した後、一部を細胞外に放出することが示唆された。

(2) 次に、バイオエタノール製造等の発酵産業で大量に生産される酵母バイオマスの有効利用法として、*Saccharomyces cerevisiae* の有害重金属化合物への応答と菌体内蓄積を検討した。その結果、*S. cerevisiae* の増殖は銅よりもクロムに強く影響を受け、共存による増殖阻害も認められた。

(3) 有害・難分解性の有機スズ化合物の細菌による分解・低毒化を検討した。簡便なフェニルスズ化合物分析法を開発し、スクリーニングの結果、新たに有機スズ化合物分解細菌 *Pseudomonas chlororaphis* CNR15 株を単離した。*P. chlororaphis* の生産・分泌するピオベルディンが、トリフェニルスズをジフェニルスズ・モノフェニルスズに分解・低毒化することを見いだした。固定化菌体法を用いることにより、少なくとも1ヶ月以上トリフェニルスズの分解が持続可能であることを明らかにした。

以上のように、本論文は微生物による重金属化合物の処理に関する研究を行い、微細緑藻や酵母の重金属化合物曝露時の応答特性を明らかにすると共に、固定化細菌による有機スズ化合物の低毒化法に関する重要な知見を報告したものであり、海洋環境微生物学、水圏応用微生物学、沿岸海洋学に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成23年6月21日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) Web での即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降