

学位論文要旨

Bioaccumulation of Vanadium by Vanadium-Resistant Bacteria

Isolated from the Intestine of *Ascidia sydneiensis samea*

(スジキレボヤの腸から単離したバナジウム耐性細菌によるバナジウム濃縮)

氏名 Romaidi

海産動物ホヤ類は、海水中に溶存するバナジウムを体内に取り込み、血球の一種であるバナドサイトの液胞中に高濃度かつ高選択的に濃縮する。その濃度は種によって決まっており、最大の種では **350 mM** に達する。この過程でバナジウムは、五価から四価に還元される。これまでの研究でバナドサイトに特異的に発現する金属関連タンパク質や膜輸送体タンパク質の解析が進んでおり、バナジウム結合タンパク質を細菌に発現させて重金属を濃縮する系の報告がなされていた。

バナジウムは自然界に広く存在する重金属で、合金の素材や石油精製の触媒としての用途に用いられる元素である。バナジウムは必須微量元素の一つであり、サプリメントとして飲用されるほか、糖尿病治療薬としての研究開発も進んでいる。しかしながら高濃度のバナジウムは多くの生物にとって毒性がある。バナジウムを含む廃水の処理は大きな問題であり、様々な手法で無害化が行われている。生物機能を応用した処理方法、特に微生物を用いた手法の開発が有望視されている。

ホヤにおいて腸は外部環境から最初にバナジウムを取り込む器官であり、腸内には種々のバクテリアが存在している。実際、腸のバナジウム濃度は比較的高いことからバナジウムを濃縮する最初の器官と言える。カタユレイボヤを用いた研究では、特定の細菌叢が腸に安定的に存在することが示唆されている。

これらの事実から私は、バナジウムを高度に濃縮するホヤの腸内環境からバナジウムの単離や除去に用いることができる細菌を単離しようと考えた。研究材料としては、日本国内に広く生息し、比較的高濃度にバナジウムを蓄積するスジキレボヤ(*Ascidia sydneiensis samea*) (血球中 **13 mM**) を選んだ。その一方で、私は腸におけるバナジウムの取り込みの前段階として腸内細菌が関与する可能性もあると考えた。すなわち海水中のバナジウムを腸内細菌が代謝し、局所的にその濃度を高めることで、ホヤの腸による取り込みを助けると考えた。

本研究では、まずスジキレボヤの腸内のバナジウム濃度が **0.67 mM** に達することを見出した。この濃度は海水中のバナジウム濃度(**35 nM**)の約 **2 万倍**に達する高濃度であり、バナジウム耐性およびバナジウム濃縮能力をもつ細菌が存在することを示唆した。この結果を受けて私は、海洋細菌に適した3種類の培地で、種々の濃度のバナジウムを添加した寒天培地を用意し、スジキレ

ボヤの腸内容物から細菌の単離を試みた。その結果、10mM 五価バナジウムを添加した培地でコロニーを形成できるバナジウム耐性細菌 51 株を単離することに成功した。それぞれの細菌株の 16S rRNA 塩基配列を決定したところ、9 種類に分類された。そのうち 4 株は *Vibrio* 属、5 株は *Shewanella* 属であった。

これら 9 種類の細菌株を液体培地で培養し、バナジウム濃縮能力を検証した。その結果、V-RA-4 および S-RA-6 の 2 つが、特に高度にバナジウムを濃縮することがわかった。これら 2 株は、20～25℃でもっとも増殖速度が大きく、少なくとも 0.5mM の濃度までのバナジウム添加によって影響を受けないことが分かった。バナジウム濃縮に対する pH の影響を pH3～9 の範囲で調べたところ、2 株ともに pH3 において最大であることがわかった。pH3 および pH7 において、濃縮されたバナジウムの大部分は細胞質に蓄積されていた。あらためて 9 株について、バナジウム以外の金属濃縮を調べたところ、銅とコバルトも高度に濃縮するが、ニッケルとモリブデンは濃縮できないことが分かった。

以上の結果からこれらの細菌株は、バナジウムおよび関連する金属のバイオレメディエーションに応用することが可能であることが示唆された。本研究の成果は、廃水中の重金属の除去技術および海水中のレアメタル分取技術の基盤となるのみならず、海産動物ホヤ類がいかにしてバナジウムを高選択的に濃縮するのかを明らかにする手がかりにもなる。