

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	Romaidi
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
<p>Bioaccumulation of Vanadium by Vanadium-Resistant Bacteria Isolated from the Intestine of <i>Ascidia sydneiensis samea</i></p> <p>(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)</p>			
論文審査担当者			
主 査	准教授 植 木 龍 也		
審査委員	教 授 小 原 政 信 (附属理学融合教育研究センター)		
審査委員	教 授 菊 池 裕		
審査委員	教 授 千 原 崇 裕		
〔論文審査の要旨〕			
<p>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。</p> <p>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。当該分野における研究全体としてはホヤのバナジウム濃縮機構と意義の解明を目指しつつ、レアメタルとしてのバナジウムの回収や、有害金属としてのバナジウムの無害化といった応用面を意図した研究も行われてきた。前述のバナジウム結合タンパク質を発現させた細菌はその一例である。</p> <p>さて、ホヤ全体をシステムとしてみた場合、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る。腸内には種々のバクテリアが存在しており、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が示唆されていた。また、カタユウ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た。</p> <p>これらの事実から申請者は、研究の目標として、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(<i>Ascidia sydneiensis samea</i>) (血球中 13 mM)を選んだ。</p> <p>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</p>			

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。この結果を受けて申請者は、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。

本研究における顕著な成果として、申請者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耐性菌を9株単離したこと、これら9株の性質を精査しバナジウムおよび銅とコバルトを高度に濃縮できるのを明らかにしたこと、うち2株が低pH条件下においてバナジウムの顕著に高度な濃縮を示すのを発見したことが挙げられる。

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と期待される。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

- (1) Bioaccumulation of Vanadium by Vanadium-Resistant Bacteria Isolated from the Intestine of *Ascidia sydneiensis samea*
Romaidi, T Ueki
Marine Biotechnology 18, 359-371 (2016).

参考論文

- (1) Coral Reefs Diversity in Gili Genting Island Sumenep Madura
F Fathorrohman, R Romaidi, B Muchtaromah
Journal of Biological Researches 19 (1), 43-45 (2013).
- (2) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella Sp.* Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Pada Tiap Fase Pertumbuhan
AG Fasya, U Khamidah, S Amaliyah, R Romaidi
Alchemy 2 (3), 162-169 (2013).
- (3) Affordable Onsite *E. coli* Testing Device for Community Engagement
A Kikuchi, M Syafinas, Romaidi, AM Mahmood, WE Putra, B Muchtaromah, Evika Sandi Savitri, Nangkula Uaberta I.A.I, Mohd Ismail bin Abd Aziz, Mutah Musa
Applied Mechanics and Materials 747, 257-260 (2015).
- (4) Dosage and Administration Length of *Centella Asiatica* (L.) Urban Decrease The Level of SOD and MDA and Improve Brain Histological Condition of Rats
B Muchtaromah, M Ahmad, S Suyono, R Romaidi, S Bahri, Hasnia Prinha Kumalasari
Jurnal Teknologi 78 (5), 57-61 (2016).