

学位論文概要 (1600字)

題目 マンガン酸化細菌の生理生態に基づく開放系での高濃度集積

(Enrichment of high concentrated manganese oxidizing bacteria based on physiology and ecology in open system)

氏名 松下 修司

本論文は、微生物を用いて排水から希少金属を回収する技術を開発するために、Mn(II)を酸化して生物由来の Mn 酸化物 (Bio-MnO_x) を形成する Mn 酸化細菌 (MnOB) の生理生態を明らかにし、これに基づいて開放系で高濃度に集積するための方法について行った研究をとりまとめたものである。

第1章「序論」では、本研究の背景となる希少金属をとりまく情勢や、金属イオンを含む排水の生物処理法の技術動向について整理した。

第2章「既往の研究」では、MnOB、Mn(II)酸化のメカニズム (Mn(II)酸化の様式、遺伝子、酵素、形成過程) および形成された Bio-MnO_x の特徴についてまとめた。

第3章「メタン酸化細菌との共生による Mn(II)酸化細菌の集積培養」では、DHS リアクターにメタンを供給することにより、開放系において Mn 酸化細菌を培養した結果をまとめた。メタンを供給することにより、最大で 0.5 kg m⁻³ d⁻¹ の Mn(II)除去速度を達し、メタン酸化細菌の中間代謝物の UAP (utilization-associated product) や BAP (biomass-associated product) を基質として利用し、*Hyphomicrobiacea* 属を中心とした MnOB が濃縮されることを明らかにした。また希少金属の Co (II) および Ni (II) を添加し、Co(II) / Mn(II) および Ni(II) / Mn(II) に対し、それぞれ 53% および 19% の割合で同時に除去されることを示した。

第4章「MnO₂による微生物増殖阻害作用を用いた Mn(II)酸化細菌の集積培養」では、化学合成された MnO₂ を含浸したスポンジを吊るした DHS リアクターと、消費し易い人口基質を用いて MnOB を集積培養した結果をまとめた。MnO₂ が様々な細菌の増殖を阻害し、MnOB が優占化されることで、早期にリアクターを早期に立ち上げることができた。Mn(II)除去速度は最大で 0.35 kg m⁻³ d⁻¹ に達し、この性能は *Pseudomonas putida* グループと新たに同定された *Comamonadaceae* 科の MnOB によるものであることを示した。

第5章「環境中からの Mn (II) 酸化細菌の分離と難分解性物質の分解特性」では、Mn と Fe を多く含む池の沈殿物から新たに MnOB を分離同定し、難分解物としてアゾ色素の分解特性を評価した結果をまとめた。MnOB は形成した Bio-MnO_x を用いて酸化還元反応を繰り返しながら難分解性物質の Bordeaux S を分解することを明らかにした。MnOB と非 MnOB が環境中で Mn 酸化還元サイクルを通じて生存競争している可能性を示した。

第6章「*Pseudomonas resinovorans* MO-1 株の特性評価および集積培養」では、これまでに分離した MnOB のうち、Mn (II) 酸化能力が高かった *P. resinovorans* MO-1 株について解析した結果をまとめた。ゲノム解析によりドラフトゲノムを決定し、その高い能力は多数の Mn 酸化関連遺伝子によるものであることを明らかにした。また、Bio-MnO_x の還元反応によって長期間の維持ができなかったが、純菌株を植菌することで MnOB 集積培養できることを示した。

第7章「*Pseudomonas resinovorans* の高濃度 Mn(II)耐性株の作出および集積培養」では、*P. resinovorans* から高濃度 Mn(II)耐性の突然変異株を作出し、解析した結果をまとめた。突然変異源 EMS を用いて高濃度 Mn(II)耐性菌の作出に成功し、ゲノム解析により高濃度 Mn(II)耐性に関わる遺伝子を推定した。高濃度 Mn(II)環境下で Mn(II)除去速度を高めることはできなかったが、MnOB を集積培養できることを示した。

第8章「総括」では、本研究において明らかになった MnOB の生理生態と、これに基づき開放系で高濃度集積した実験結果についてとりまとめ、今後の実用化に向けた展望や応用展開を示した。

なぜ MnOB は Mn(II)酸化を行うのか。Bio-MnO_x は BAP といった難分解性物質を分解に役立ち、また多くの細菌の成長を阻害した。これらの結果から、MnOB は Mn(II)酸化を行いながら、薄い基質環境下の中で有利に生存する生態特性を有していた。

どのように MnOB は Mn(II)酸化を行うのか。多様な MnOB がマンガン酸化に関わる遺伝子を保有しているが、保有状況はかなり異なっていた。そして、Mn(II)の酸化は、細菌の生育条件が良い時に起こり、自身の生存が脅かされるような極端な pH、温度、基質濃度、Mn(II)では生じなかった生理特性を有していた。

本研究は、これらの基礎的な知見に基づき、様々な条件下で解放条件下の DHS リアクターで MnOB を集積できることを明らかにした。