

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（学術）	氏名	Madison Pascual Munar
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>Microbiological Synthesis of Metalloid Tellurium Towards Biotechnology of Heavy Metal Bioremediation and Rare Metal Recycling (重金属のバイオレメディエーションおよびレアメタルリサイクリングに向けた金属テルルの微生物による合成)</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	岡村好子	印
審査委員	教授	加藤純一	印
審査委員	教授	黒田章夫	印
審査委員	教授	秋庸裕	印
〔論文審査の要旨〕			
<p>重金属イオンは生体毒性があり、環境中に漏出すると水系汚染、土壌汚染により人体ばかりでなく生態系の破壊にもなりかねない。したがって、低濃度の重金属イオンであっても除去されることが望ましい。古くから細菌や植物の重金属イオン蓄積能を利用したバイオレメディエーションが研究されている。しかしながら、除去後の重金属高蓄積生体廃棄物の処理についてはあまり議論されてこなかった。</p> <p>本研究では、バイオミネラリゼーションを利用して重金属イオンをレアメタル資源として回収することを大目的とし、特に生体毒性の強い亜テルル酸イオン(TeO_3^{2-})を金属態テルル($\text{Te}(0)$)へ変換する微生物に注目した。本研究を通じて、高濃度亜テルル酸イオンに耐性を示す微生物、あるいは亜テルル酸還元遺伝子を新規に探索することにより、レアメタルの回収のみならずナノ材料の提供に資するバイオテクノロジーの開発を目指した。</p> <p>第1章では緒言として、レアメタルであるテルルの有用性と水に溶解した場合のイオン態である亜テルル酸イオンの毒性をまとめ、これに対して耐性を示す微生物と亜テルル酸還元メカニズムに関する既往の知見をまとめた。</p> <p>第2章では、亜テルル酸還元を示す菌叢から主要な亜テルル酸還元菌の分離を目指した。16S rDNAの全塩基配列に基づき、新規の細菌3株を単菌分離した。系統解析の結果、<i>Shewanella algae</i> Strain Hiro-1, <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> Strain Hiro-2, <i>P. stutzeri</i> Strain Hiro-3と命名した。3株ともテルル酸ナトリウムに対して極めて強い耐性を示した。<i>S. algae</i> Hiro-1は15mMという最も高い耐性を示したが、2つの<i>Pseudomonas</i>は4mMのNa_2TeO_3で耐性を示した。3株とも$\text{Te}(0)$の結晶を細胞内で合成していることを透過型電子顕微鏡観察およびX線回折によって確かめた。Hiro-1では、長い針状結晶が観察され、それらは一緒にアニールされてTeロゼットを形成していた。Hiro-2では小さな針状結晶が、Hiro-3では小さなナノロッドが観察された。Te結晶の最小単位サイズ</p>			

は 60nm だった。Hiro-1 は既報の 12mM よりも高濃度での亜テルル酸イオンに耐性を示し、バイオレメディエーションにおいて有用な発見となった。

第 3 章では、メタゲノムライブラリースクリーニングを利用した新規亜テルル酸還元遺伝子の分離を目指した。大腸菌の亜テルル酸耐性が 4 μ M であることを利用し、構築したライブラリークローンを 1mM Na₂TeO₃ を含む培地で培養することでポジティブスクリーニングし、黒色コロニーを形成したクローンをキャラクターゼーションした。A1 株と命名した亜テルル酸還元株は、最小阻害濃度 (MIC) 2mM を示し、500nm 以上の長針結晶を合成していた。メタゲノム断片をシークエンスし、含まれている 2 つの ORF をそれぞれ個別に発現ベクターに導入したところ、ORF1 保持組換え株でのみ還元活性が見られたため、ORF1 を責任遺伝子と同定した。この新規遺伝子は 214 アミノ酸残基からなり、既知のタンパク質と低い配列相同性を示した。また、*P. stutzeri* 由来の遺伝子と相同性を示すことから、Hiro-3 から由来した遺伝子であると推定している。A1 株のさらなる培養の中で、クロラムフェニコール感受性と亜テルル酸耐性が向上した変異株が分離された。この変異株の発見によって、抗生物質不使用のオンサイトバイオレメディエーションに適用可能性が示唆された。しかし、この変異株が環境に無害であることを証明するためには、さらなる遺伝子解析の実験が必要である。

本研究の成果は、亜テルル酸に高耐性の 3 つの新規細菌株を分離し、大腸菌に亜テルル酸還元能および亜テルル酸耐性能を付与する新規遺伝子を明らかにした。これらの発見はバイオレメディエーションとレアメタル回収を両立する新規なバイオテクノロジーとして工学的および学術的意義が大きい。したがって、本論文の著者は、博士 (学術) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。

備考 審査の要旨は、1,500 字程度とする。