

Title	二種の高濃度セレン酸還元細菌のセレン酸還元関連遺伝子群の解析
Author(s)	黒田, 真史
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1682
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

セレンは現行の処理法では廃水から経済的に除去する事が困難な元素であり、新たな技術の開発が求められている。これに対し、水溶性のセレン酸化物を還元し不溶性の元素態セレンに転換する能力を持つ細菌を利用した生物学的セレン含有廃水処理法は、低コストかつ資源としてのセレン回収が可能である魅力的な技術である。しかし、高濃度セレン酸を還元可能な細菌は環境中には少ないため、高濃度のセレン酸を含む廃水の処理は容易ではないのが現状である。この問題を解決すべく、本研究では高濃度のセレン酸を還元可能な細菌を単離・解析し、そのセレン酸還元機構を分子生物学的手法を用いて解析することにより、高効率な生物学的セレン含有廃水処理リアクターの構築と合理的制御のための基礎的知見を得ることを目的とした。本論文は、緒論、5章からなる本論、および総括並びに結論から構成されている。

第1章では、高濃度セレン酸還元細菌とそのセレン酸還元機構に関する既往研究を整理した。セレン酸還元細菌のうち、グラム陽性細菌のセレン酸還元機構に関してはほとんど知見が得られていないことが示された。また好気性セレン酸還元細菌は、セレン酸還元のみならず亜セレン酸還元能力も高く、生物学的セレン含有廃水処理への適用に有望であると考えられるものの、報告例が極めて少ないことが明らかとなった。

第2章では、代表的なグラム陽性嫌気性セレン酸還元細菌 *Bacillus* sp. SF-1 について、分子生物学・生理学的に特徴付けを行い、種を同定した。その結果、SF-1株は新種の細菌であることが明らかとなり、*B. selenatarsenatis* と命名した。

第3章では、*B. selenatarsenatis* SF-1の持つセレン酸還元に関連する遺伝子を特定することにより、セレン酸還元機構の解明を試みた。SF-1株のセレン酸還元酵素をコードする遺伝子 *srdBCA* の単離に成功し、そのアミノ酸配列の解析結果より、この酵素が膜結合型酵素であり、モリブデンや鉄-硫黄クラスターを補因子として含む事を明らかにした。これより、研究例の乏しいグラム陽性セレン酸還元細菌のセレン酸還元機構の一端が明らかとなった。

第4章では、新たな好気性セレン酸還元細菌の単離を試みた。セレン精錬工場の排水溝より、セレン酸・亜セレン酸を好気条件下で速やかに還元できる *Pseudomonas stutzeri* NT-I を単離することができた。NT-I株は、セレン酸・亜セレン酸の両者について、約10 mM という非常に高い初期濃度においても完全に還元できることが明らかとなった。これより、NT-I株はこれまでに報告されているセレン酸還元細菌と比べて、高濃度のセレン酸を元素態セレンにまで還元する能力が高く、生物学的セレン含有廃水処理リアクターへの適用が有望な菌株であることが示された。

第5章では、*P. stutzeri* NT-Iの持つセレン酸還元に関連する遺伝子を特定することにより、そのセレン酸還元機構の解明を試みた。NT-I株のセレン酸還元酵素は嫌気性セレン酸還元細菌 *Thauera selenatis* AXの持つ同酵素と相同性が高く、同様の構造を持つことが示唆された。本酵素は好気性セレン酸還元を担う酵素でありながら、酸素に対する感受性が高いモリブデンや鉄-硫黄クラスターといった補因子を抱えているという、極めて興味深い知見が得られた。

総括ならびに結論では、以上の成果を総括し、今後の展望をまとめた。

論文審査の結果の要旨

セレンはレアメタルとして高い価値を有するが、現行の技術では廃水から経済的に除去し、回収することが困難な元素である。一方、水溶性のセレン酸化物を還元し、不溶性の元素態セレンにする能力を持つ細菌を利用した生物学的セレン含有廃水処理法が、低コストで、セレンを資源として回収することも可能な新技術として提案されている。しかし、高濃度セレン酸を還元可能な細菌の分離例は少なく、そのセレン酸還元機構も詳細に解明されていないことから、現状では高濃度のセレン酸を含む廃水への適用は十分に確立されたものとなっていない。

本論文は、この問題の解決を目指し、高効率な生物学的セレン含有廃水処理リアクターの構築と合理的制御を行うための基礎的知見を得ることを目的として、高濃度のセレン酸を還元可能な細菌を単離・解析し、そのセレン酸還元の分子機構を解析したものであり、緒論と5章からなる本論、および総括並びに結論から構成されている。

第1章では、セレン酸還元細菌とその還元機構に関する既往研究を整理している。グラム陽性細菌のセレン酸還元機構に関しては、ほとんど知見が得られていないこと、および、好気性セレン酸還元細菌は、セレン酸還元のみならず亜セレン酸還元能力も高く、生物学的廃水処理技術への適用に有望であることを明らかにしている。

[145]

氏名	黒田真史
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第25536号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科環境・エネルギー工学専攻
学位論文名	二種の高濃度セレン酸還元細菌のセレン酸還元関連遺伝子群の解析
論文審査委員	(主査) 教授 池道彦 (副査) 教授 栗津邦男 芝浦工業大学工学部応用化学科教授 山下光雄 准教授 惣田訓

第2章では、グラム陽性嫌気性セレン酸還元細菌 *Bacillus* sp. SF-1 について、分子生物学・生理学的に特徴付けを試みている。その結果、SF-1 株は新種の細菌であることが明らかとなり、*B. selenatarsenatis* と命名している。

第3章では、*B. selenatarsenatis* SF-1 の持つセレン酸還元に関連する遺伝子の特定を試みている。その結果、世界で初となるグラム陽性菌のセレン酸還元酵素遺伝子 *srdBCA* の単離に成功している。また、アミノ酸配列の解析により、この酵素が膜結合型酵素であり、モリブデンや鉄-硫黄クラスターを補因子として含むことを明らかにしている。

第4章では、新たな好気性セレン酸還元細菌の単離を試みている。その結果、セレン精錬工場の排水溝より、セレン酸・亜セレン酸を好気条件下で速やかに還元できる *Pseudomonas stutzeri* NT-1 を単離することに成功している。NT-1 株は、これまでに報告されているセレン酸還元細菌と比べて、高濃度のセレン酸を元素態セレンにまで還元する能力が高く、生物学的セレン含有廃水処理リアクターへの適用において極めて有望であることを示唆している。

第5章では、*P. stutzeri* NT-1 のセレン酸還元遺伝子を特定することを試みている。その結果、セレン酸還元酵素をコードした *serABDC* 遺伝子の単離に成功し、本酵素が好気性セレン酸還元を担うものでありながら、酸素に対する感受性が高いモリブデンや鉄-硫黄クラスターといった補因子を含んでいるという興味深い知見を得ている。

総括並びに結論では、以上の結果を踏まえ、高濃度のセレン酸を還元可能な細菌とその遺伝子の有用性に関して議論するとともに、これらを利用した高効率な生物学的セレン含有廃水処理リアクターの構築と合理的制御に向けた今後の課題と期待について述べている。

以上のように、本論文は環境・エネルギー工学、特にセレン含有廃水処理法のための遺伝子工学の発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。