OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Isolation and characterization of thermophilic and psychrophilic bacteria from oil fields
Author(s)	加藤, 智久
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3184280
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【5】

氏名	加藤智久（かとうともひさ）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 16171 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科物質・生命工学専攻
学位論文名	Isolation and characterization of thermophilic and psychrophilic bacteria from oil fields （新規高温／低温油田細菌の単離と諸性質の解析）
論文審査委員	（主査） 教授 金谷 茂則 （副査） 教授 柳田 祥三　教授 福住 俊一　教授 宮田 幹二 教授 横山 正明　教授 高井 義造　教授 梅野 正隆

論文内容の要旨

本論文は、深度地下油田に生息する微生物を単離しその特徴を解明すると共に、高温あるいは低温など一般の生物にとっての極限環境下において石油関連化合物（炭化水素類、エステル類など）を分解する細菌群のバイオレメディエーションへの応用の可能性について調べることを目的としたものであり、極限環境の一例として、国内外の低温或いは高温油田や石油備蓄タンクから広く細菌を分離し、特有の石油代謝能力を中心に生理学的な特徴を解析している。本論文はこれらの成果をまとめたものであり、以下の6章から構成されている。

第1章では、本研究の背景と意義ならびに目的について述べている。

第2章では、カナダアルバータ州のオイルサンドや新潟県集油所のタンク内油層水サンプルから、低温環境下でカテコール及びトリプチリンを分解する耐冷菌（CAB1株、SIB1株、SIC1株、SIS1株）を分離している。更に、カテコールの分解について、その中間代謝産物の解析からオルト経路によるものであることを明らかにしている。

第3章では、好熱性のアルカン分解菌B23株とH41株をそれぞれ新潟県南阿賀油田及び秋田県八橋油田から分離し、高温環境下における長鎖のアルカンに対する分解活性及びその代謝経路を調べている。更に、その代謝に関与していると思われる酵素遺伝子として、ショットガンクローニング法によりアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子を取得し、その解析を行っている。

第4章では、第3章で得られたB23株において、アルカン存在下で顕著に発現が誘導されるタンパク質（P24、P21、P16）の解析を行っている。また、B23株のアルカン分解時において、活性酸素除去タンパク質としてSODと共にカタラーゼが誘導されることを発見し、活性酸素を生産する酵素として、これまで細菌では報告のないアシル－CoAオキシダーゼ活性を検出している。

第5章では、第4章で調べられたアルカン存在下で顕著に発現が誘導されるタンパク質の一つであるP21及びその近傍遺伝子を解析した結果、P21遺伝子上流に存在していたアルカン代謝に関与すると思われるアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子について解析している。本酵素遺伝子の発現時期や、大腸菌内で大量発現し精製した酵素について基質特異性などを調べ、アルカン代謝との関わりを検討している。

第6章では、本研究により得られた結果が総括され、今後の展望について述べられている。

論文審査の結果の要旨

高温油田に生存している好熱性油田細菌は融点が高い高分子量炭化水素類の分解、そして低温環境に生存している好冷性油田細菌は冬場の海洋など低温環境現場での炭化水素類の微生物分解に利用できると期待される。そこで、本研究では、極限環境の一例として、国内外の低温或いは高温油田や石油備蓄タンクから広く新規石油代謝細菌を分離し、特有の石油代謝能力を中心に生理学的な特徴を解析している。その主な成果を要約すると以下に示す通りである。

(1)カナダアルバータ州のオイルサンドや新潟県集油所のタンク内油層水サンプルから分離した耐冷菌（CAB 1 株、SIB 1 株、SIC 1 株、SIS 1 株）は、カテコール及びトリプチリンに対する分解活性を示したことから、低温環境下における芳香族炭化水素やエステル類の原位置処理法によるバイオレメディエーションへの利用が期待される。

(2)新潟県南阿賀油田及び秋田県八橋油田から分離した好熱性のアルカン分解菌 B23株と H41株は70℃において長鎖のアルカンに対する分解活性を示したことから、高温環境下における高分子炭化水素などのスラリー処理法によるバイオレメディエーションへの利用が期待できる。

(3)B23株においてはアルカン分解時に活性酸素除去タンパク質として SOD と共にカタラーゼが誘導され、さらに活性酸素を生産する酵素として、これまで細菌では報告のないアシル－CoA オキシダーゼ活性も誘導されることを見い出したので、好熱性油田細菌のアルカン代謝は細菌型ではなく真核生物型であることが示唆される。

(4)B23株からクローニングしたアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子はアルカン存在下で転写レベルが上昇し、さらに長鎖のアルデヒドに対して活性を有していたので、本遺伝子はアルカン代謝に関与していることが示唆される。

以上のように本論文では、国内外の低温或いは高温油田や石油備蓄タンクから低温環境下でカテコール及びトリプチリンを分解する耐冷菌や高温環境下でアルカンを分解する好熱菌を分離しその諸性質について調べ、バイオレメディエーションへの応用、また深度地下の生態系やまたそこに生存する細菌の持つ特徴的なアルカン代謝経路について考察を行っている。これらの成果は、今後、微生物を利用した環境汚染物質除去「バイオレメディエーション」への応用が期待されるものであり、応用生物学、特に環境微生物学の分野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のあるものと認める。