



Title	Development of PCRs for Monitoring Specific Bacteria Related to Biodegradation of Environmental Pollutants
Author(s)	清, 和成
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3184465">https://doi.org/10.11501/3184465</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	せい 清 かつ 和 なり 成
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 2 6 8 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 工学研究科環境工学専攻
学 位 論 文 名	Development of PCRs for Monitoring Specific Bacteria Related to Biodegradation of Environmental Pollutants (環境汚染物質の分解菌をモニタリングする PCR 法の開発)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 藤 田 正 憲  (副査) 教 授 塩 谷 捨 明    教 授 原 島   俊    助 教 授 池   道 彦

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、PCR 法を利用した特定の環境汚染物質の分解菌をモニタリングする手法の開発を目的として、環境サンプルからの DNA 抽出法の確立と特定の汚染物質分解遺伝子を総括的に検出する PCR プライマーおよび DNA プローブの設計を行った上で、実際の汚染物質分解菌のモニタリングへの応用を試みたもので、5 章から構成されている。

第 1 章では緒論として、遺伝子型に基づいた特定微生物の検出、モニタリング手法に関する既往研究をまとめるとともに、本研究の背景および目的を明らかにしている。

第 2 章では、環境サンプルからの DNA 抽出に関して各種の方法を比較検討し、多様な水環境および土壌環境からそれぞれ迅速かつ簡便にしかも高回収率で純度の高い DNA を抽出する手法を確立している。

第 3 章では、ポリ (3-ヒドロキシ酪酸) (PHB) の分解菌を幅広く検出する PCR プライマーと DNA プローブを設計し、既知の PHB 分解菌検出に有効であることを実験的に明らかにするとともに、各種土壌環境サンプル中の PHB 分解菌数の定量に適用している。その結果、設計されたプライマー・プローブのセットにより、自然環境中の大部分の PHB 分解菌を検出できることを明らかにするとともに、本法により、極めて高感度で PHB 分解菌を定量的に計測できることを実証している。

第 4 章では、芳香族化合物の分解菌を幅広く検出する PCR プライマーおよび DNA プローブを設計し、検出への有効性を実験的に検証するとともに、水環境マイクロゾムに適用して、芳香族化合物分解菌の挙動解析を試みている。その結果、設計されたプライマー・プローブのセットにより、自然環境中の芳香族化合物分解菌を極めて広範に検出できることを示し、本法によって、水環境マイクロゾム中における芳香族化合物分解菌の定量的な把握が行えることを示している。

第 5 章では、本研究の成果を総括した上で、ここで開発された DNA 抽出法と PCR プライマーおよび DNA プローブの実用性について総合的に展望している。

## 論文審査の結果の要旨

汚染環境の生物浄化において、浄化微生物の挙動を把握することは、浄化機構の解明や安全性評価を行う上で不可欠であるが、従来法は定量の限界、検出の困難性など多くの問題を抱え、新たな検出手法の開発が注目されていた。

本論文は、PCR 法を利用した特定の環境汚染物質の分解菌をモニタリングすることを目的に、広範な分解菌に適用し得る手法の開発についてまとめたものである。既往研究のまとめと合わせて、環境サンプルからの DNA 抽出法の確立と特定の環境汚染物質分解能をコードした機能遺伝子を総括的に検出する PCR プライマーおよび DNA プロブの設計を行った上で、実際の汚染物質分解菌のモニタリングへの応用を試み、以下の成果を得ている。

- (1)多様な水環境および土壌環境から、PCR 法によって特定の環境汚染物質分解菌のモニタリングに用いることのできる DNA 抽出法を確立している。
- (2)生分解性プラスチックであるポリ（3-ヒドロキシ酪酸）（PHB）の分解菌を幅広く検出可能な PCR プライマーおよび DNA プロブを設計し、自然環境中に存在している大部分の PHB 分解菌を検出できることを実験的に示している。また、その適用により、極めて高感度な PHB 分解菌の定量が行えることを実証している。
- (3)芳香族化合物の分解菌を総括的に検出可能な PCR プライマーおよび DNA プロブを設計し、自然環境中に存在している芳香族化合物分解菌を極めて広範に検出できることを実験的に示している。また、その適用により、水環境マイクロバブル中における芳香族化合物分解菌の挙動をモニタリングできることを示している。

このように、本論文は PCR 法を利用して、迅速・簡便かつ高感度に特定の環境汚染物質の分解菌をモニタリングする手法を開発し、実験的検討を通じてその実用性を示している。

以上のように、本論文は環境工学、特に環境生物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。