



Title	フェノール分解菌を用いたトリクロロエチレン分解に関する研究
Author(s)	武尾, 正弘
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3129328">https://doi.org/10.11501/3129328</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	武 尾 正 弘
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 13297 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 5 月 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	フェノール分解菌を用いたトリクロロエチレン分解に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 藤田 正憲 (副査) 教 授 菅 健一 教 授 塩谷 捨明 教 授 室岡 義勝

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、代表的な土壤及び地下水汚染物質であるトリクロロエチレン (TCE) を効果的に除去するバイオレメディエーション (生物環境修復) システムを構築するための基礎研究として、フェノール分解菌及びフェノール分解遺伝子を利用した TCE 分解に関する研究成果をまとめたもので、緒論、本論 5 章、及び総括並びに結論から構成されている。

緒論では、研究の背景並びに目的と論文の概略を示している。

第 1 章では、一般土壤中で TCE 分解に関与し得るフェノール分解菌の存在量を明らかにするために、土壤サンプル中のフェノール分解菌の簡便な計数法を確立し、その方法により分解菌の計数を行い、各地の土壤中に  $10^6/1\text{ g}$  (乾燥土壤) オーダーの多数のフェノール分解菌が存在することを明らかとしている。

第 2 章では、土壤中のフェノール分解菌の TCE 分解能力を評価するために、分離株を含め 14 株のフェノール分解菌の TCE 分解能を調べたところ、供試菌株のうち 1 株を除くすべての菌株が TCE 分解活性を持つことを示している。また、高い TCE 分解活性を有する菌株や分解活性の持続する有用な菌株の存在を明らかにしている。

第 3 章では、供試菌株の中で TCE 分解活性の高かった *Pseudomonas putida* 株について、その TCE 分解特性を詳細に検討し、本菌株の有する芳香族化合物分解経路のうち、フェノール分解経路のみが TCE 分解と密接に関係することを示している。また、本菌株の TCE 分解能力を速度論的に評価し、既知の TCE 分解菌と同等の能力を有することを明らかにしている。

第 4 章では、*P. putida* BH 株の TCE 分解に関与するフェノール分解遺伝子群の解析を行い、TCE 分解を触媒するのがフェノールヒドロキシラーゼに対応する *pheA* 遺伝子であることを明らかにしている。次いで、本酵素かマルチコンポーネントタイプであること、また、その発現が制御遺伝子 (*pheR*) の産物により正の制御を受けることを推論している。

第 5 章では、遺伝子組換え体をバイオレメディエーションで活用することを前提に、遺伝子組換え体の TCE 分解特性を調べ、フェノール誘導条件下で *Escherichia coli* 及び *P. putida* を宿主とする組換え体が、親株同様の良好な TCE

分解を示すことを認めている。また、大腸菌の高発現宿主ベクター系を利用してフェノール誘導の必要ない組換え体の構築に成功している。

総括並びに結論では、本研究の成果を総括するとともに今後の課題について展望している。

## 論文審査の結果の要旨

トリクロロエチレン (TCE) は、半導体製造業や金属加工業などで、溶剤や脱脂剤として大量に使用されている物質で、慢性毒性や発癌性を有する生体にとってリスクの高い物質である。近年、本物質による広範囲の地下水汚染の実態が明らかになり、水道水源を通して我々の健康を直接脅かす大きな問題となっている。従って、早急に効果的な TCE 汚染地下水の浄化システムの開発が切望されている。本論文では、上記観点から、TCE を効果的に除去するバイオレメディエーション（生物環境修復）システムを構築するための基礎研究として、フェノール分解菌及びフェノール分解遺伝子を利用した TCE 分解について種々実験的検討を行っている。本論文の成果を要約すると以下の通りである。

(1) TCE 分解に関与し得る土壤中のフェノール分解菌の存在量を調べ、一般土壤中に  $10^6/1\text{ g}$  (乾燥土壤) オーダーの多数のフェノール分解菌が存在することを明らかにしている。また、供試土壤から分離した菌株を含む各種フェノール分解菌の TCE 分解能力を評価し、大部分のフェノール分解菌が TCE 分解能力を有することを明らかにしている。さらに、供試菌株の中には、高い TCE 分解能を有する菌株や分解活性の持続する有用な菌株が存在することを明らかにしている。

(2) 供試菌株のうち、高い TCE 分解活性を有する *Pseudomonas putida* BH 株の TCE 分解特性を詳細に検討し、本菌株の TCE 分解がフェノール分解経路と密接に関係することを示し、さらに、速度論的解析から、既知の TCE 分解菌と同程度の TCE 分解能力を有することを推定している。

(3) *P. putida* BH 株の TCE 分解機構を遺伝子レベルで解析し、本菌株の有するマルチコンポネントのフェノールヒドロキシラーゼが TCE 分解を触媒することを示し、さらに、この酵素遺伝子の発現がフェノールと制御蛋白により正の制御を受けることを明らかにしている。

(4) バイオレメディエーションへの遺伝子組換え体の活用を前提に、*Escherichia coli* 及び *P. putida* の組換え体による TCE 分解特性を検討し、これらの組換え体が親株 BH 株同様の TCE 分解活性を持つことを示している。さらに、フェノールによる誘導の必要のない組換え体の構築に成功している。

以上のように、本論文では、バイオレメディエーションの方式を選択する際に重要な、土壤中のフェノール分解菌の存在量とその TCE 分解能力を明かにし、次いで、バイオレメディエーションに活用し得る有用なフェノール分解菌の TCE 分解特性と遺伝子レベルでの TCE 分解機構を明らかにしている。さらに、バイオレメディエーションへの遺伝子組換え体の活用を考慮し、組換え体の TCE 分解挙動を明らかにしている。これらの成果は、TCE のバイオレメディエーションシステムの構築にあたり、貴重な基礎的知見を与えるものであり、さらに、将来的に期待される遺伝子組換え体のバイオレメディエーションへの活用の方向性を提示したもので、環境工学分野に対して貢献するところが大である。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。