

| | |
|--------------|---|
| Title | 活性汚泥法への遺伝子組換え体の活用に関する基礎的研究 |
| Author(s) | 池, 道彦 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| Text Version | ETD |
| URL | https://doi.org/10.11501/3067972 |
| DOI | 10.11501/3067972 |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

| | |
|---------------|---|
| 氏 名 | 池 道 彦 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (工 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 0 8 3 6 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 5 年 5 月 27 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 | 活性汚泥法への遺伝子組換え体の活用に関する基礎的研究 |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 藤 田 正 憲 教 授 高 野 光 男 教 授 吉 田 敏 臣 |

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、活性汚泥法の高度化・効率化を図るために、遺伝子組換え体の活用に着目し、その実用化のための育種、遺伝的安定性、および生態学的安定性に関する一連の研究成果をまとめたものであり、緒論、3編計7章の本論、および総括並びに結論から構成されている。

緒論では、研究の背景および目的と論文の概略を述べている。

第1編では、組換え体活用の場としての活性汚泥の微生物学的、遺伝学的特性の把握を目的とし、活性汚泥における出現細菌およびそのプラスミドに関する調査を行っている。第1章では、汚泥滞留時間（SRT）の異なる活性汚泥の細菌相を調べ、SRT増加に伴い細菌相が多様化することを示している。また、第2章では、下水処理場の流入水、活性汚泥、および処理水中の細菌株からプラスミドを検索し、その処理場内での分布を明らかにしている。即ち、プラスミドを保持する細菌は、流入水中ではかなり高い比率で存在するが、曝気槽内ではその比率が低下し、処理水中ではその比率が再び高くなる傾向を認めている。

第2編では、活性汚泥法機能向上に有効な組換え体の育種について検討している。第1章では、サリチル酸ヒドロキシラーゼ遺伝子をフェノール分解菌 *P. putida* PpG1064に導入してサリチル酸資化能を賦与し、野生株に優る両基質の分解能を示す多成分基質分解菌を育種している。また、第2章では、*P. putida* BHの染色体からクローニングしたカテコール2, 3オキシゲナーゼ遺伝子を組換えプラスミドの形で元株に戻し、フェノールの中間代謝経路を強化し、低フェノール濃度下で速くフェノールを分解・除去する組換え体を作成している。

第3編では、組換え体の安定性について検討するとともに、組換え体を活用した活性汚泥法のプロセスを提案している。第1章では、組換えプラスミドの各種宿主内での安定性を調べ、遺伝子脱落の機構を明らかにするとともに、その結果をもとに安定性が高く、かつ活性汚泥法への活用に有効な組換え体の作成条件について明らかにしている。第2章では、生態学的安定性を検討するため、組換え体の活性汚泥内での残存性を、回分培養および連続処理装置により調べている。この結果、活性汚泥に添加された組換え体は初期に急激な減少を示した後、生菌数を安定に維持すること、および、SRTを短く設定することで組換え体を比較的高いレベルに維持できることを明らかにしている。

第3章では、これらの知見をもとに、活性汚泥法への組換え体の有効な活用法について、いくつかの実用的プロセスを提案し、評価している。

総括並びに結論では以上の成果をとりまとめるとともに、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

本論文は、下廃水処理で広く普及している活性汚泥法の効率化・高度化を行うことを目的として、遺伝子組換え体の活用に関する基礎的検討を行ったものであり、その主な成果は次の通りである。

- (1) 遺伝子組換え体を活用する微生物生態系としての活性汚泥の特性を明らかにするため、活性汚泥の細菌相に及ぼす汚泥滞留時間（SRT）の影響を調べ、SRTの増大に伴って細菌相が多様化することを示している。
- (2) 組換えプラスミドの挙動に影響を及ぼす活性汚泥処理系内各所での細菌プラスミドの分布を調査し、全生菌数に対するプラスミド保持菌の比率を求めたところ、流入水中、処理水中ではかなり高い比率であるに対し、曝気槽内ではその比率が低下する傾向を認めている。
- (3) 芳香族化合物分解遺伝子を材料として、分解基質の拡大、および中間代謝経路の強化を目的として、2種の組換え体を育種し、これらと野生株とのサリチル酸およびフェノール分解能を比較することにより、育種の効果を明らかにしている。
- (4) 各種宿主内での組換えプラスミドの安定性試験から、遺伝子脱落の機構を明らかにするとともに、活性汚泥法への活用にも有効な遺伝的安定性の高い組換え体の作成条件を示している。
- (5) 生態学的安定性を検討するため、遺伝子組換え体の活性汚泥内での残存を、回分培養および連続処理装置により調べ、活性汚泥に添加された組換え体は初期に急激な減少を示した後、一定水準の生菌数を安定に維持することを明らかにしている。また、SRTを短く設定することで組換え体を比較的高いレベルに安定に維持できることを明らかにしている。
- (6) 活性汚泥法への組換え体の有効な活用法について検討し、いくつかの実用的プロセスを提案し、評価している。

以上のように本論文は、遺伝子組換え体活用による活性汚泥法の効率化・高度化に必要な基礎的知見を収集するとともに、本方法の実現可能性を総合的に論じたものであり、環境工学および環境浄化技術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。