

環境・生命工学専攻	学籍番号	951812
申請者氏名	吉田 奈央子	

指導教員氏名	平石 明
	菊池 洋一
	藤江 幸一

論文要旨(博士)

論文題目	複合微生物群集によるダイオキシン分解
------	--------------------

(要旨 1,200字程度)

ダイオキシン汚染環境の浄化技術の一つとして、微生物を用いた生物学的環境修復がある。これまでも、ダイオキシン河川底泥や海洋底泥などの環境において、生物学的ダイオキシン脱塩素化が生じることが報告されている。しかしながら、ダイオキシン脱塩素化複合微生物群を構成する微生物組成、脱塩素化を担っている細菌量等の生物学的動態は不明であり、ダイオキシン汚染環境の浄化を実施するには、浄化能の安定性や、処理の主体を担う微生物動態等の基本的な情報が不足している現状がある。本研究では、ダイオキシン汚染環境試料として、環境基準値のおよそ10倍のダイオキシンに汚染された河川底泥浚渫保管試料を用い、バイオスティミュレーションの有効性を評価すると共に、修復過程における微生物群集構造を決定した。加えて、簡便な分解活性モニタリング技術の開発を試みた。

ダイオキシン汚染河川底泥浚渫保管試料に、水分及び有機物を補填し、生物学的脱塩素化条件下での培養を1年間行った結果、マイクロコズム内のダイオキシンの有意な減少を確認した。このマイクロコズムのダイオキシン分解活性を半減期 $T_{1/2}$ で評価したところ、自然界のダイオキシン半減期のおよそ8-10倍の速度であることが示された。

構築したダイオキシン生分解マイクロコズムについて、16S rRNA 遺伝子に基づいた微生物群集構造解析を行った結果、本マイクロコズムには、主にバクテロイデテス、クロロフレキシ、ファーミキューテス 及び プロテオバクテリア (特に ベータプロテオバクテリアおよびデルタプロテオバクテリア) が優占していた。この微生物群集構造は、有機塩素化合物汚染帯水層、1,2-ジクロロプロパン脱塩素化コンソーシア、1,2,3-トリクロロベンゼン脱塩素化コンソーシア、1,2,3,4-TCDD 脱塩素化コンソーシアおよび PCB 脱塩素化コンソーシアと類似していた。また、ダイオキシン脱塩素化細菌として知られる "Dehalococcoides" 群の検出を定量 PCR 法を用いて試みた結果、バクテリアの 0.2-0.5% 存在していた。本マイクロコズムにおいて、ダイオキシンの酸化分解産物であるカテコールおよびサリチル酸が検出されたことから、ダイオキシン酸化分解細菌の分離を試みた。本研究では、*Novosphingobium* 属 4 株、*Arthrobacter* 属 1 株および *Rhizobium* 属 3 株、*Mycobacterium* 属 4 株、*Paenibacillus* sp. 5 株、*Hydrocarboniphaga effusa* に最類縁の γ -*Proteobacteria* 門 3 株を分離した。これらの多芳香化合物の分解特性評価ならびにジオキシングナーゼ遺伝子の解析を行った。得られたジオキシングナーゼ遺伝子配列をもとに、定量 PCR 法によるマイクロコズムのダイオキシン分解酵素遺伝子の定量を試みた。

また、生物学的環境修復過程における簡便な機能微生物のモニタリング技術開発を目的として、細胞の呼吸活性検出に広く用いられてきた蛍光性テトラゾリウム塩である CTC (5'-cyano 2,3-ditortyl tetrazolium chloride) に着目し、ダイオキシン分解分離菌株及びマイクロコズム試料におけるダイオキシンの酸化分解活性の検出を行った。