

環境・生命工学専攻	学籍番号	033810	指導 教員	平石 明 (主査) 菊池 洋 (副査) 浴 俊彦 (副査)
申請者 氏名	海谷 慎一			

論文要旨 (博士)

論文題目	ダイオキシンの還元的脱塩素化プロセスにおける芳香族化合物分解細菌の特性と生態学的意義
------	--

(要旨 1,200 字程度)

ダイオキシンは人間の生産活動に伴って非意図的に生成する難分解性の有機塩素化合物であり、局所的には環境基準を越える濃度で環境を汚染している。毒性を有する高塩素化のダイオキシン同族体の直接的生分解は難しいため、まず還元的脱塩素化した後、好氣的に酸化分解する2つの段階を含む分解プロセスが浄化技術として有望であるとされている。筆者らの研究室では、ダイオキシン汚染試料を添加した半嫌気脱塩素化マイクロコズムやダイオキシン分解固相バイオリアクターを構築し、還元的脱塩素化と酸化分解が同時に起こっているという状況証拠を得てきたが、酸化分解を担う微生物の実体については不明であった。そこで本研究では、ダイオキシン脱塩素化プロセスにおける芳香族炭化水素分解 (aromatic-hydrocarbon degrading, AHD) 細菌の特性と生態学的意義を解明することを目的として、前記マイクロコズムより AHD 細菌を分離し、その系統・分類学的解析とともに、含有する芳香族水酸化ジオキシゲナーゼ (aromatic-ring-hydroxylating dioxygenase, AhDO) 遺伝子の構造や分解特性に関する解析を行った。まず、分離された好気性 AHD 細菌の中で、特に分離頻度の高かった *Paenibacillus* 属および *Rhizobium* 属細菌のそれぞれ1株を選択し、それらの分解特性および分解に関わる新規の AhDO 遺伝子の構造と系統について明らかにした。さらに、定量 PCR によりマイクロコズム堆積物内にこれらの AhDO 遺伝子が 10^5 copies g^{-1} 程度常在することを明らかにし、マイクロコズム内で脱塩素化細菌“*Dehalococcoides*”と共存する AHD 細菌が脱塩素化産物の分解に関わっている可能性を示した。次に、前記の *Rhizobium* 属細菌について系統・分類学的新規性の検証を行った。一般的な表現型試験に加えて、ハウスキーピング遺伝子を標的とした多遺伝子座配列解析および 16S-23S rDNA スペーサー領域配列の解析を行った結果、この細菌が *Rhizobium* 属の新種とすべき分類群であることを認め、特にナフタレンの分解に優れていることから *Rhizobium naphthalenivorans* と命名した。さらに、脱塩素化活性を有する“*Dehalococcoides*”含有高度集積培養物より分離された別の *Rhizobium* 属細菌の特性評価を行った。これらの *Rhizobium* 属細菌分離株は *Rhizobium naphthalenivorans* とは系統学的に異なり、AHD 活性も示さなかったが、有機塩素化合物を添加した嫌気培養条件で増殖することが認められた。特に塩素化ベンゼンでの培養ではその脱塩素化物が検出された。

本研究の成果は、複合系微生物群集のダイオキシン脱塩素化プロセスにおいて嫌気性の脱ハロゲン呼吸細菌と好気性の AHD 細菌が共存するという仮説を裏付ける証拠を提示しており、有機塩素化合物汚染環境の修復技術の開発と適用に有用な基礎情報を付与すると考えられる。