



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## Bioadsorption of Ytterbium by Streptomyces sp.

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: AMBAR PERTIWININGRUM メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2686">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2686</a>

氏名(本国籍)	AMBAR PERTIWININGRUM (インドネシア共和国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第 345 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 10 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Bioadsorption of Ytterbium by <i>Streptomyces</i> sp. ( <i>Streptomyces</i> sp.によるイッテルビウムの生物吸着)
審査委員会	主査 岐阜大学 教授 河合 啓一 副査 岐阜大学 助教授 鈴木 徹 副査 静岡大学 教授 朴 龍洙 副査 信州大学 助教授 橋本 博之

### 論文の内容の要旨

希土類元素は、磁性体や発光素子として電子情報機器、精密光学機器、家電製品など高度工業製品に多用されている重要な元素群である。現在、希土類元素の分離には主に有機溶媒抽出法が採用されており、その高度精製にはイオン交換クロマトグラフィーが用いられている。これらの分離精製法はその操作に長時間を要し、エネルギー多消費型であるため稼働コストも高い。さらに、大量の有機溶媒の使用やイオン交換樹脂の再生など環境高負荷型のプロセスであるため管理コストも必要とされている。

これらの諸問題を解決するために、微生物機能を活用した希土類元素の相互分離技術の開発を目指し、当研究室で分離した Yb 吸着能を有する *Streptomyces* sp. YB-1 の洗浄菌体による Yb 吸着特性を明かにするとともに、特定の希土類元素を吸着する微生物の探索を行い、Yb を優先的に吸着する放線菌の分離に成功、*Streptomyces* sp. YB-2733 と同定した。さらに、両菌株の Yb 吸着機構を明かにし、これら 2 菌株の洗浄菌体及び細胞膜画分の Yb 吸着体としての有用性について検討したものである。

まず、16 種類の *Streptomyces* 属の菌株を用いて培養時における Yb の吸着能を調べた。その結果、*Streptomyces* sp. YB-1 が優れた Yb 吸着能を有していることを認めた。そこで、本菌株 YB-1 の洗浄菌体による Yb の吸着特性を調べた。その結果、pH 5.5 に最適 pH を有し、温度の影響については 30℃までは温度の上昇に伴い、Yb 吸着量は直線的に増加し、Yb 吸着が温度依存的であることを明かにした。さらに、Cu(II)が Yb

吸着量を 2.5 倍以上に増加させることを認めるとともに、種々の金属イオン共存下で本菌株は Yb を優先的に吸着することを明らかにした。また、Cr(III)と V(III)も幾分吸着された。本菌株は乾燥菌体 1 g あたり 4-6 mg の Yb を吸着した。

*Streptomyces* sp.YB-1 は供試したすべての希土類元素を吸着し、希土類元素に対する特異性が見られない。そこで、Sc、Ce、Sm 及び Yb を用いて、これらの元素のみを特異的に吸着する微生物の探索を行った。その結果、培地に添加したこれらの元素を 80%以上減少させた微生物として、Sc では単離した 251 菌株からカビ 1 株、Ce では 274 菌株から細菌 2 株と放線菌 1 株、Sm では 308 菌株からカビ 2 株及び Yb では 476 菌株から細菌 1 株と放線菌 2 株がそれぞれ分離された。これらの分離菌株の中で、Yb を吸着した放線菌 YB-2733 が Tm と Lu に加え Y に対しても高い吸着能を示したことから、本菌株は重希土類元素を特異的に吸着することを明かにした。菌学的特徴及び 16S リボゾーム DNA の塩基配列の分類学的系統解析から菌株 YB-2733 を *Streptomyces* sp.と同定した。本菌株は乾燥菌体 1 g あたり Yb を 5-7 mg 吸着していた。

次に、*Streptomyces* sp.YB-1 及び YB-2733 の両菌株を用いて、Yb 吸着機構について検討した。菌体に吸着された Yb は、菌株 YB-1 では細胞膜画分に 87%存在し、乾燥膜画分 1g あたり 20-25 mg の Yb を、また、菌株 YB-2733 では 84%存在し、22-28 mg の Yb を吸着していた。さらに、菌株 YB-1 の膜画分の SDS 処理による除タンパク、次いで Bligh-Dyer 法による脱脂後の Yb 吸着物質について元素分析を行ったところ、Yb と P の含有モル比がほぼ 1 : 1 であることを認め、細胞膜画分中において Yb は P 化合物に吸着しているものと推察した。

次に、両菌株の細胞膜画分を用いて、Yb の溶離条件について検討を加えた。細胞膜画分に吸着している Yb は、菌株 YB-1 の場合には 1 mM EDTA 或いは 1 M HCl にてほぼ完全に溶離したが、リゾチーム、プロテイナーゼ K 或いは 1 M NaCl による処理や 0.4% SDS 中 5 分間の煮沸では Yb は一部溶離したのみであった。一方、菌株 YB-2733 では 1 mM EDTA による処理でのみほぼ完全な Yb の溶離が認められた。

以上の知見を基に、洗浄菌体及び細胞膜画分の Yb 吸着体としての有用性を調べた。すなわち、これらの標品による Yb の吸着-溶離の繰返し使用実験を 5 回行った。その結果、2 回目の脱着試験において洗浄菌体及び細胞膜画分ともに幾分 Yb 吸着能の減少が見られたものの、それ以後 5 回目まではほぼ一定の Yb 吸着能を示した。

以上、本研究で用いた *Streptomyces* sp.YB-1 及び YB-2733 の両菌株が、洗浄菌体及び細胞膜画分ともに、Yb 吸着体として有用であることを示すことができ、微生物機能を導入した希土類元素の相互分離技術の開発に対し貴重な知見を提供することができた。

平成 16 年 8 月 12 日午後 1 時より、審査委員全員の出席のもとに公開論文発表会が開催され、約 35 分間の発表と約 20 分間の質疑応答が行われた。審査委員からの質問に一部理解不足のところが見られたが、概ね適切に答えた。

高度情報化社会を支えている希土類元素は 15 種類のランタノイドに Sc と Y を加えた 17 元素の総称で、物理化学的性質がよく似ていることからその相互分離が極めて困難なものとなっている。本論文は、微生物機能を活用した希土類元素の相互分離技術の開発を目指したもので、以下に示す結果を得ている。

(1) *Streptomyces* sp. YB-1 の洗浄菌体による Yb の生物吸着: 16 種類の *Streptomyces* 属の菌株を用いて Yb 減少能を調べたところ、*Streptomyces* sp. YB-1 が最も優れた Yb 減少能を有していることを認め、本菌株が乾燥菌体重量あたりおよそ 4-6 mg の Yb を吸着していることを明かにした。次に、*Streptomyces* sp. YB-1 の洗浄菌体による Yb の吸着条件を検討し、最適 pH が 5.5 であること及び Yb の吸着量は 30℃までは温度の上昇とともに直線的に増加することを認めた。さらに、Cu(II)の存在下で Yb 吸着量が 2.5 倍以上となり、本菌株による Yb 吸着が Cu(II)により大きく促進されるという興味深い結果を得た。本菌株は種々の金属イオン存在下で、Yb を優先的に吸着したが、Cr(III)と V(III)も多少吸着することを認めた。

(2) 特定の希土類元素を吸着する微生物の探索: *Streptomyces* sp. YB-1 はすべての希土類元素を吸着し、特異性が見られないことが指摘されている。そこで、特定の希土類元素を特異的に吸着する能力を有する微生物の探索を行った。希土類元素として Sc, Ce, Sm 及び Yb を用い、培地に添加した各希土類元素を 80%以上減少させる微生物を選抜した。Sc では単離した 251 菌株からカビ 1 株、Ce では 274 菌株から細菌 2 株と放線菌 1 株、Sm では 308 菌株からカビ 2 株、また Yb では 476 菌株より放線菌 2 株をそれぞれ分離した。次に、各分離菌株について希土類元素に対する吸着特異性を調べ、Yb に対し高い減少能を示した菌株 YB-2733 が Yb のほかに Tm と Lu にも高い減少能を示すことを認めた。さらに、重希土類元素と原子半径が似ている Y も減少させることから、菌株 YB-2733 は重希土類元素を特異的に減少させることを明かにした。菌学的特徴並びに 16S リボゾーム DNA 配列の系統解析結果から、本菌株を *Streptomyces* 属と同定した。

(3) Yb 生物吸着体としての微生物細胞: *Streptomyces* sp. YB-1 及び YB-2733 の Yb 吸着菌体における Yb の分布を調べ、両菌株とも吸着された Yb 量のそれぞれ 87%及び 84%が細胞膜画分に濃縮されていること及びこの画分の乾燥重量 1 g あたりそれぞれ 20-25 mg 及び 22-28 mg の Yb を吸着していることを明らかにした。さらに、細胞膜画分中の Yb 吸着物質を明らかにするために、菌株 YB-1 を用いて検討した。細

胞膜画分を SDS 処理によりタンパク質を除去、次いで Bligh-Dyer 法により脂質を除去した後の Yb 吸着物質について元素分析を行った。その結果、この物質中 Yb と P がモル比でおよそ 1 : 1 の割合で含まれていることを認め、Yb は細胞膜中でリン化合物として存在しているものと推察した。さらに、この膜画分からの Yb の溶離条件を検討し、細胞膜に吸着している Yb が 1 mM EDTA により完全に溶離されることを明らかにした。次に、両菌株の洗浄菌体及び細胞膜画分を用いて、Yb の吸着-溶離の繰り返し試験を 5 回行ったところ、2 回目で幾分 Yb 吸着量が減少したものの、2 回目以降は良好に繰り返し使用が出来ることを明らかにした。

以上、本論文は *Streptomyces* sp. YB-1 及び YB-2733 による希土類元素の吸着特性、吸着機構及びその応用に向けて検討を加えたもので、その研究内容の学術的価値は高く、また、微生物機能の導入による希土類元素の相互分離技術の開発に貴重な情報を提供したものと高く評価された。

審査委員会において本論文の構成や内容について慎重に審査した結果、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと判定した。

#### [基礎となる学術論文]

1. A. Pertiwinigrum, Y. Ino, T. Suzuki, and K. Kawai: Distribution of ytterbium (Yb) in cells of *Streptomyces* sp. YB-1 which can accumulate Yb, and reusability of cells and cell membrane as bioadsorbent for Yb. J. Biosci. Bioeng., Vol. 98, No.3, (2004). (in press)
2. アンバル ペルティウィニングルム・鈴木徹・岩間智徳・河合啓一: イッテルビウムを優先的に吸着する *Streptomyces* sp. の分離及びその吸着特性. 環境技術 (2004). (印刷中)