岐阜大学機関リポジトリ
Gifu University Institutional Repository

希土類元素集積微生物に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 上條, 万二郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2501

氏　　名（国籍）	上　條　万二郎　（愛 知 県）
学　位　の　種　類	博士（農学）
学　位　記　番　号	農博甲第１６０号
学位授与年月日	平成１１年３月１５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	希土類元素集積微生物に関する研究
審　査　委　員	主査　岐阜大学教授　河合啓一 副査　信州大学教授　寄藤高光 副査　静岡大学教授　田原康孝 副査　岐阜大学助教授　鈴木徹

論　文　の　内　容　の　要　旨

希土類元素は、強力磁性体、蛍光発光体、半導体レーザー、触媒等として用いられており、電子機器工業、自動車工業、セラミックス工業などハイテク産業に不可欠な元素で、その需要は大きく伸びている。現在、希土類元素の分離精製には多量の有機溶媒とエネルギーの多消費を伴う環境高負荷型のプロセスが採用されている。一方、希土類元素と微生物との関わりに関する研究は未知の分野であり、微生物生態学や生物無機化学等の研究分野に新領域を拓くものとして興味深い。そこで、本研究では、微生物機能を活用した環境調和型希土類元素分離技術の開発を目指すとともに、希土類元素と微生物との関わりを明らかにする一端として希土類元素集積微生物の探索とその集積機構に関する基礎的な知見を得ることを目的とした。

様々な元素に対し取り込み能の高い低栄養微生物に着目し、希土類元素の代表として、Y、Ce、Sm及びYbを用いて、これらの元素を集積する微生物の探索を行った。土壌系や水系試料を適宜希釈し、1/100希釈肉汁平板培地に塗布、30℃7～10日間培養しコロニーを形成させた。コロニーを純化後、希土類元素(5ppm)含有肉汁液体培地に植菌し、30℃で7日間振盪培養した。添加した希土類元素を50%以上減少させた菌株を希土類元素集積微生物として選抜した。希土類元素は比色法及びイオン結合高周波プラスマ法で定量した。

Yの場合低栄養微生物465株のうち7菌株（すべて細菌）、Ceでは276株中4菌株（細菌2株、放線菌2株）、Smでは308株中7菌株（すべて糸状菌）、及びYbでは476株中5菌株（細菌2株、放線菌3株）が選抜され、低栄養微生物のうち希土類元素を減少させる能力を有する微生物はおよそ1～2%の割合であった。

Yを集積する7菌株のうち良好な集積能を示した3菌株は、*Variovorax paradoxus* Y-1、

Comamonas acidovorans Y-2及びY-3と同定され、いずれの菌株ともYのほか軽希土類(La、Ce、Pr、Nd)に高い集積能を示した。また、*V.paradoxus* Y-1はY存在下でのみ菌体外に沈降性の高分子物質を著量生産した。エネルギー分散型X線分光法にてこの物質中にYが多量取り込まれていることが確認された。この分泌物質は、タンパク質57.9%、糖質5.8%、リン3.3%、Y6.6%及びその他26.4%から構成されていた。また、この物質に取り込まれたYはEDTA処理のほか、ホスファターゼ、α-アミラーゼまたはグルコース 6-ホスファターゼ処理により50～80%以上遊離したことから、Yはこの分泌物質中のα-1,4-結合したグルコース 6-リン酸の重合体に結合していることが明らかとなった。これらの結果は、Yや軽希土類の精製、濃縮、回収などのプロセスにこのリン酸化多糖質の導入が有効であることを示している。

Yb集積微生物2菌株は、*Streptomyces* sp.YB-1及び*Methylobacterium fujisawaense* YB-2と同定された。YB-1株はすべての希土類元素に対して集積能を示したが、YB-2株はYbに対して比較的高い集積能を示し、菌株により集積特性が異なっていることが明らかとなった。YB-2株は希土類鉱石ゼノタイム中に多量含まれているYbの分離精製への導入が可能と考えられる。一方、YB-1株は、増殖を阻害する程度の希土類元素(La、Nd、Sm、Yb)を添加すると、希釈肉汁平板培地上で菌体内に赤紫色の色素を生成した。しかしながら、他の金属イオン(Ni、Co、Mn、Al)ではまったく生成しなかったことから、YB-1株によるこの色素生成は希土類元素に依存していることが明かとなった。また、生成色素を一連のシリカゲルクロマトグラフィーにて精製し、各種機器分析によりその構造を解析した結果、ナフトキノン構造を母核に持つ色素であった。これらの結果は、希土類元素が放線菌の二次代謝に影響を及ぼすことを示しており、生物無機化学的にも極めて興味深い現象である。

CeあるいはSm集積微生物に関しては、分離菌はすべての希土類元素を集積し、選択性は認められなかった。Ce集積菌CE-1株はイオン半径の類似したCa^{2+}やBi^{3+}を特異的に集積したことから、本菌株による希土類元素の集積はイオン半径を認識していることが明らかになった。またSmを集積した糸状菌(SM-1、SM-2)の場合には、両菌株とも希土類元素とイオン半径の近似した+3価の金属イオン(Bi^{3+}、In^{3+})を特異的に集積したことから、イオン半径とイオン価数が希土類元素の集積に関与していることが示された。

以上、本研究は、微生物機能の活用による希土類元素の相互分離技術の開発への道を拓くものとして、また、希土類元素と微生物との関わりに関するまったく新しい研究領域を開拓したものとして位置付けられ、応用上のみならず基礎的にも極めて貴重な知見を得ている。

審　査　結　果　の　要　旨

本論文は、ハイテク産業の発展に伴いその需要が大きく延びている希土類元素に着目、微生物機能を活用したこれらの元素の相互分離技術の開発並びに希土類元素と微生物との関わりに関する基礎的な知見を得る目的で、希土類元素を集積する微生物の探索、培養挙動及びその集積特性等にについて検討を加えたものである。希土類元素集積微生物の探索にあたり、当初通常微生物の培養に使用する培地に希土類元素を添加すると希土類元素が

不溶性の沈澱を形成するため、実験の継続が不可能であった。そこで、著者は使用可能な培地を調製するために創意工夫を重ね、肉汁培地の栄養分を1/100に希釈した培地を用い、あらかじめNaOHにてアルカリ性にした後、希土類元素の酸性溶液にて徐々に中和すると希土類元素が沈澱しない培地が調製できることを見いだした。この希土類元素含有液体培地調製の成功が本研究を可能としたことは特記すべきである。

希土類元素として、Y、Ce、Sm、Ybの4種を選び、また、探索の対象とした微生物は低栄養条件下で旺盛な増殖を示す低栄養微生物を標的として、あらかじめ多数の低栄養微生物を単離、次いでこれらの分離菌を希土類元素含有希釈肉汁液体培地に植菌、振盪培養し、希土類元素を減少させる微生物を探索した。このような創意工夫と努力の結果、供試した低栄養微生物の中から、1～2%の割合で希土類元素集積微生物の分離に成功した。単離された微生物は細菌、放線菌、糸状菌等であった。しかし、使用した元素の種類により分離される微生物の種類に偏りが見られ、例えば、Yではすべて細菌であったが、Ybではすべて糸状菌であった。これらの結果は、微生物の中には希土類元素を集積する能力を有するものが存在していることを明らかにするとともに、気取り類元素が微生物の種類によっては毒性発現することを示しており、興味が持たれる。

Y集積微生物のうち、良好なYの減少能を示した3菌株をそれぞれ*Variovorax paradoxus* Y-1と*Comamonas acidovorans* Y-2及びY-3と同定した。*V. paradoxus* Y-1が菌体外に生産した高分子物質に多量のYが吸着していることを認め、さらにYを吸着している物質がグルコース 6-リン酸の重合体であることを明らかにした。本物質はYや軽希土類元素の分離、精製、回収に可能であろう。一方、Yb集積微生物では、*Streptomyces* sp.YB-1が希土類元素存在下でのみナフトキノン系色素を生産することを認め、希土類元素が放線菌の二次代謝に影響を及ぼすことを明らかにした。また、Ybを比較的特異的に集積する*Methylobacterium fujisawaense* YB-2が分離されたことから、自然界にはある特定の希土類元素を集積する微生物が存在していることを窺わせており、今後も探索研究が待たれる。

さらに、Ce及びSmを集積する微生物については、いづれの菌株ともすべての希土類元素を集積し、特異性は見られていないが、これらの分離菌による希土類元素の集積機構として、Ce集積細菌CE-1（未同定）の場合は希土類元素のイオン半径を認識してCeを集積していること、また、Sm集積糸状菌(未同定）SM-1株及びSM-2株の場合にはイオン半径と+3のイオン価数を認識してSmを集積していることを明らかにした。

以上述べたように本論文は、希土類元素と微生物との関わりの一端を明らかにしたもので、極めて独創性が高い内容であり、新しい研究領域を開拓したものとして微生物生態学微生物生理学、また環境科学的にも高く評価される。

以上、本論文審査委員会は、提出論文及び基礎となる学術論文等について慎重に審議し、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博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

〔基礎となる学術論文〕

1) M.Kamijo, T.Suzuki, K.Kawai, and H.Murase: Accumulation of Yttrium by *Variovorax paradoxus*. J.Ferment.Bioeng., 86(6), 564-568, 1998.

2) M.Kamijo, T.Suzuki, K.Kawai, T.Fujii, and H.Murase: Ytterbium-decreasing *Streptomyces* sp. and its Naphthoquinone-Pigment Production in the Presence of Rare Earth Elements. J.Ferment.Bioeng. (in press).