

東京近郊水圏由来の芳香族炭化水素を資化分解する細菌のライブラリ作製

浦野 直人 (東京海洋大学 学術研究院海洋環境科学部門, urano@kaiyodai.ac.jp)

遠藤 琳太郎 (東京海洋大学 大学院海洋資源環境学専攻, yzenrin@gmail.com)

石田 真巳 (東京海洋大学 学術研究院海洋環境科学部門, ishida@kaiyodai.ac.jp)

岡井 公彦 (東京海洋大学 学術研究院海洋環境科学部門, mokai01@kaiyodai.ac.jp)

高塩 仁愛 (ゼンショーホールディングス基盤技術研究所, masachika.takashio@zensho.com)

Construction of library for aromatic hydrocarbon-assimilating, -degrading bacteria from aquatic environments around Tokyo

Naoto Urano (Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Rintaro Endo (Course of Marine Environmental Studies, Graduate School of Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Masami Ishida (Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Masahiko Okai (Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Masachika Takashio (Zensho Laboratories of Food Technology, Zensho Holdings Co., Ltd., Japan)

要約

日本では昭和30~40年代—高度経済成長期に著しい環境破壊が発生した。東京近郊の水辺（河川・湖沼・運河・海沿岸など）は流出ゴミや油・洗剤の泡等により悪臭を放ち、魚介類が生息しない腐敗水の巨大な溜まり場と化した。その時代から数十年の歳月を経て都市の水質は改善し、かつて水底に堆積したヘドロは現在も残存しているが、ヘドロ中の有害化学物質濃度は多くの水辺で減衰している。これは非常に長い時間を経て化学物質が自然分解され、更に微生物により資化分解されたことに基因する。筆者らは東京近郊のかつての汚染水圏を探索して、自然繁殖している芳香族炭化水素(AHs)を資化分解する微生物を単離・解析してライブラリを作製した。本ライブラリにはAHsの中で一員環（ベンゼン）、三員環（フェナントレン）、四員環（ピレン、クリセン、ベンゾ[a]アントラセン）、五員環（ベンゾ[a]ピレン、ジベンゾ[a, h]アントラセン、ベンゾ[b]フルオランテン）、六員環（ベンゾ[g, h, i]ペリレン）などの資化分解細菌を保管した。これらの菌株は種多様性に富み、かつ同一菌株がAHs複数種の資化分解能を保持していた。特にヒトに強い発癌性が報告されているベンゾ[a]ピレンの分解能が高い新奇細菌種を単離した。本ライブラリを活用することで、生態系を攪乱しないバイオレメディエーションへの応用が期待される。

キーワード

芳香族炭化水素, ベンゾ[a]ピレン, 資化分解細菌, 微生物ライブラリ, バイオ(リゾ)レメディエーション

1. はじめに

日本では昭和30~40年代—高度経済成長期に、著しい環境破壊が発生した。列島各地で短期間に数多くの野山の開墾や水辺の干拓が行われ、家庭や産業の廃棄物が環境中へ大量流出して、大気・土壌・水辺の汚染が深刻化した。環境汚染が原因となる公害病も発生した。昭和40年頃、東京都の下水道普及率は23区でも約35%に過ぎず、筆者の記憶を辿ると、近郊の水辺（河川・湖沼・運河・海沿岸など）は流出ゴミや油、洗剤の泡により耐え難い悪臭を放ち、魚介類が生息しない腐敗水の巨大な溜まり場と化していた（東京都下水道局, 2019）。高度経済成長期における負の遺産は第一に環境破壊であったと言える。

その後、東京都では行政や都民の環境意識が目覚め、排水・排ガス規制・公害局の設置などの保全対策が活発化し、更に都の活動が全国に進展して行くことで、日本列島全体の環境が徐々に改善されていった。現在、東京都は下水道普及率がほぼ100%となり、東京湾は水棲生物の宝庫として知られ、多摩川等の一級河川では鮎の遡上が見られるなど、水辺の水質が著しく向上している。かつて水底に堆積したヘドロは現在でも残存しているが、ヘドロ中の有害化学物質（重金属、有

機塩素化合物、多環芳香族炭化水素など）濃度は、多くの水辺で徐々に減衰している（安藤, 2009）。これは非常に長い時間において、有害化学物質が自然分解され、更に微生物群により資化分解されたことに基因する。こうした汚染物質の自然減衰現象はナチュラルアテニューエーションと称されている。

さて筆者らは約25年間、汚染環境のバイオレメディエーション（生物を利用した環境浄化）に関する研究を行ってきた。一般にバイオレメディエーションは、バイオスティミュレーション（汚染区域に賦活剤を散布して天然の浄化微生物を活性化させる方法）とバイオオーグメンテーション（汚染区域に微生物製剤を散布してより積極的に浄化を行う方法）の二技術に分かれる。前技術は比較的長期間（~複数年）をかけた環境浄化を前提としているが、汚染現場ではより短期間（数ヶ月~1年）での浄化を求められる事例が多い為、汎用性が広い手法とは言えないであろう。一方、後技術は浄化期間の短縮を目指した手法として開発された。ところが後技術では、汚染環境に元々生息していない微生物を製剤として散布することが多いため、バイオハザード（侵入生物による生態系の攪乱）の発生が危惧される。このため日本では、後技術の実施に関して「微生物によるバイオレメディエーション利用指針（ガイドライン）」が制定されているが、利活用は未だ限定的である。また汚染区域に特別な処理を施さずに自然の回復力に期待するナチュラルアテニューエーションは、汚染化学物質が許容値以下になるまで、より長い時間（~数十年）を

要する。よって本法は学術的な解析－自然の回復力を定量化すること－に用いられているが、汚染区域の浄化ニーズに直接的な貢献をなすことは困難である(矢木, 2008)。

そこで筆者らは、上記各技術をハイブリッドするバイオレメディエーションを計画した。最初に、東京近郊でかつて環境汚染が発生し、その後はナチュラルアテニュエーションが進行していると推定される水圏を微生物の探索地区に選んだ。次に、その水圏の環境水や底泥で自然繁殖しているAHs 資化分解微生物を単離・解析して、微生物ライブラリを作製した。なお日本では、都市開発区域の土壌や地下水に有害化学物質の汚染が判明し、開発継続を巡り大きな社会問題を呈した事例が幾つもある。こうした汚染区域では、化学物質を資化分解する微生物が自然繁殖することが多いが、当該微生物は環境フローラ中でマイノリティであるため、汚染区域のナチュラルアテニュエーションに貢献している。そこで筆者らは、多種の資化分解微生物をライブラリ保存して、汚染区域の浄化ニーズ発生時に、区域に生息する菌と同種の資化分解菌がマジョリティになる様に散布して、生態系を攪乱しないバイオオーグメンテーション構築を計画している。本報では、東京湾近郊水圏を中心にAHs 資化分解細菌の探索を行い、ライブラリ保管した菌株の性質解析結果を中心に総論する。

2. 芳香族炭化水素

芳香族炭化水素 Aromatic Hydrocarbons (AHs) は、芳香環を主骨格(一員環～多員環)とする炭化水素を指す。AHs は産業や日常生活で多方面に利用されているが、直接吸引や皮膚接触すると、慢性・急性毒性や発癌性を示す化合物が多い。図1に示す様に、産業や家庭由来の有機性廃棄物の不完全燃焼により発生したAHs が大気・環境水・ヘドロ・土壌などを汚染して、しばしば社会問題となっている(尾崎他, 2005)。なお芳香環を二員環以上保持するAHs を多環芳香族炭化水素 Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) と呼ぶが、PAHs は環数が多く成るほど難生分解性で環境中に残存し易くなり、急性毒性は弱まるものの、変異原・発癌・催奇性が高まるものが多い。中でも五員環のベンゾ[a]ピレン(BaP)はヒトに強い発癌性を示す化合物として知られている(天野他, 2004; 尾崎他, 2004)。筆者らはAHsの中で一員環(ベンゼン)、三員環(フェナント

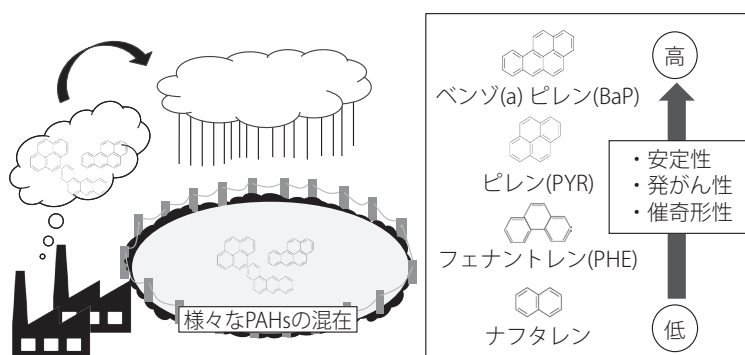
レン)、四員環(ピレン、クリセン、ベンゾ[a]アントラセン)、五員環(ベンゾ[a]ピレン、ジベンゾ[a, h]アントラセン、ベンゾ[b]フルオランテン)、六員環(ベンゾ[g, h, i]ペリレン)などの資化分解細菌を単離・解析して、ライブラリを作製した。

3. ベンゼン資化細菌

一員環AHsであるベンゼン C_6H_6 は、かつて有機溶剤として頻用されていたが、沸点 $80.1^{\circ}C$ で揮発性が強く、発癌性や急性毒性も認められているため、現代の化学工業では使用が回避される傾向にある。また都市ガスの製造は石炭を原料とすることが多く、副産物としてベンゼンが生成される。このため都市ガス製造工場跡地の再開発時に、土壌や地下水のベンゼン汚染が報告され、開発を中断して汚染区域のベンゼン除去が優先課題と成った事例がある。そして汚染区域にバイオレメディエーションも試行されたが、実質的な効果は明確で無かった(高畑他, 2008; 高畑, 2013)。

筆者らは東京近郊でベンゼン汚染の報告が無いA地点(3ヶ所)と、ベンゼン汚染の報告が有るB地点(5ヶ所)の環境水を採集し、そこに生息するベンゼン資化分解菌の単離を試みた。まず一般細菌をA地点から762株、B地点から360株の全1,122株を単離した。次にこれらの株をベンゼン $100\mu g/mL$ 添加無機塩培地と、ベンゼン無添加無機塩培地の両方を用いて培養した。するとA地点由来の8株(A1-67, A1-106, A1-140, A1-200, A2-90, A2-162, A3-22, A3-158)とB地点由来の5株(B1-3, B2-8, B3-14, B3-20, B5-29)は、ベンゼン添加により生育能が著しく高まることがわかった。よって上記の13株をベンゼン資化菌と判定した。ベンゼン資化菌を16S rDNA塩基配列解析により分類同定した結果を表1に示す。

ベンゼン資化菌株は全て種が異なり、9属13種の細菌に分類された。この結果から、ベンゼン資化菌は種多様性が高くなり高く、東京近郊には様々なベンゼン資化菌が自然繁殖していると考えられた。またA地点からベンゼン資化菌が単離されたため、汚染報告が無い地帯でもベンゼン汚染の可能性が示唆された。ベンゼン汚染地帯はナチュラルアテニュエーションによりベンゼン濃度が減衰して行くと推定できるが、汚染地帯の早期再開発が求められる際には、より迅速な濃度低減が必要となる。上記の社会情勢を踏まえて、筆者らは



- ・石油の精製、有機物の不完全燃焼によって発生
- ・長期間環境中に残留し環境汚染を引き起こす

図1：環境を汚染する芳香族炭化水素

表1：ベンゼン資化菌の分類

採取場所	菌株番号	同定結果	相同性
A1	67	<i>Pseudomonas koreensis</i>	857/876 (98 %)
A1	106	<i>Bacillus cereus</i>	579/583 (99 %)
A1	140	<i>Comamonas aquatica</i>	332/346 (96 %)
A1	200	<i>Stenotrophomonas terrae</i>	1134/1143 (99 %)
A2	90	<i>Bacillus simplex</i>	666/675 (99 %)
A2	162	<i>Bacillus megaterium</i>	519/530 (98 %)
A3	22	<i>Bacillus luciferensis</i>	637/660 (97 %)
A3	158	<i>Aeromonas popoffii</i>	657/665 (99 %)
B1	3	<i>Microbacterium murale</i>	567/600 (95 %)
B2	8	<i>Pseudomonas cuatrocienegasensis</i>	1323/1342 (99 %)
B3	14	<i>Micrococcus luteus</i>	1337/1340 (99 %)
B3	20	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	1267/1285 (99 %)
B5	20	<i>Acinetobacter</i> sp.	674/701 (96 %)

ベンゼン資化細菌13株を凍結(-80℃下)することで菌体を休眠状態にしライブラリ保管した。本ライブラリは社会ニーズがあった際に、随時にバイオレメディエーションに利活用できる体制を整えている。

4. ベンゾ [a] ピレン分解細菌

ベンゾ [a] ピレン (BAP) C₂₀H₁₂ はPAHsの中でも発癌・変異原・催奇性が強い化合物とされ、国際癌研究機関(International Agency for Research on Cancer)によりグループI (ヒトに発癌性が有る物質)に指定されている。BAPは有機物の不完全燃焼により生成し環境に放出されることが多く、半減期は水中で875日、土壌中で290日と長い為、生物濃縮により人体に高濃度で摂取される可能性も有り、危険度がかかなり高い化合物と認識されている(池中他, 2008)。

2011年3月の東日本大震災により、東京湾では石油コンビナート火災や大小様々な油流出事故が発生した。そこで筆者らは、震災後の東京湾近郊水圏でBAP濃度が高まり、それに対応して通常時より以上にBAP分解菌が自然繁殖する可能性を仮定した。

図2に示すように、筆者らは2011年4月～8月にかけて、東京湾近郊の水圏から環境水を採集し、合計1,091株の一般細菌を単離した。これらの菌株をBAPを含む平板培地で培養して、コロニー周囲に同心円状のクリアゾーン(混濁BAPを分解して透明化した部位)を形成した菌株をスクリーニングした。11株のコロニーに明瞭なクリアゾーン形成が認められたため、これらをBAP分解菌として研究を進めた。

表2に示すように、BAP分解菌11株は7属9種の細菌と未同定菌2株に分類された。なお7属9種のうち8種はBAP分解菌として既報告されていた。一方、残り1種の細菌 *Olleya* sp. はBAP分解報告が無く、新奇分解菌として以後の研究対象株と考えた(Okai et al., 2015a)。また未同定菌株は新種の可能性など未知の魅力を含むが、病原性菌の可能性を考慮して、以後の実験対象から外した。

図3にBAP分解菌各株による培地中のBAP(100 µg/mL)の分解結果を示す。培養7日間で、No. 9 (*Olleya* sp.) はBAPの



図2：油流入水圏からの環境水の採集

表2：ベンゾ [a] ピレン分解菌の分類

単離No.	菌種
1	<i>Mycobacterium brisbanense</i>
2	<i>Sphingobium amiense</i>
3	<i>Mycobacterium fluoranthenorans</i>
4	<i>Leifsonia ginsengi</i>
5	<i>Mesorhizobium septentrionale</i>
6	<i>Mycobacterium brisbanense</i>
7	未同定
8	<i>Bacillus megaterium</i>
9	<i>Olleya</i> sp.
10	<i>Mesoflavibacter zeaxanthinifaciens</i>
11	未同定

49.7%を分解するなど11株中でも高い分解能を保持していることがわかった。よって、*Olleya* sp. 株は新奇BAP分解菌であること、BAP高分解能を保持していることから、以後ITB9株と称して研究を継続した。筆者らは *Olleya* sp. ITB9の全ゲノ

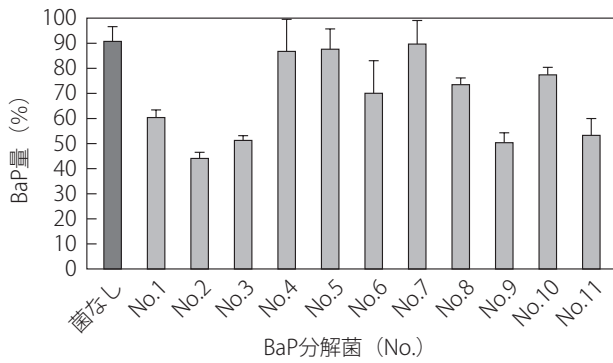


図3：培養7日間のベンゾ[a]ピレン分解

ム配列を解析し、結果を Genome Announcement で公開した (Okai et al., 2015b)。本情報に基づいて BaP の分解代謝経路の解明を行っている。

次に筆者らは、微生物内の PAHs 分解酵素系が植物の根から分泌される有機酸により発現誘導される報告 (Ouvrard et al., 2006) に着目した。本実験で使用した主な有機酸種を図4に示す。有機酸の中には、植物体の根から分泌され、根圏微生物との共生系において、植物の養分吸収や微生物による有害化合物の解毒に関与している酸種があり、これらを根酸と称す

る (平舘, 1989)。そこで ITB9 の BaP 分解が根酸により促進されるならば、ITB9 は植物根圏 (根が大きな影響を及ぼす空間) へ走化性を示して増殖する。根圏に存在している BaP は ITB9 により生分解され、解毒された分解産物は根から吸収され栄養分と成り得ると考えた。この仮説を踏まえて、筆者らは BaP 分解菌-植物の共生系による BaP 高分解システムを構築する研究を計画した。なお微生物-植物の共生系を利用したバイオレメディエーションをリゾレメディエーションと総称する。

ITB9 の BaP 分解に及ぼす各種有機酸の影響を図5に示す。11種類の有機酸についての添加効果を調べたところ、ITB9 の BaP 分解を促進または阻害する有機酸が存在することがわかった。とりわけコハク酸、フタル酸、グルタミン酸などのジカルボン酸が BaP 分解能を顕著に促進した。またコハク酸、フタル酸、グルタミン酸はいずれも根酸としての報告があり、これらの有機酸を分泌する根圏への ITB9 の走化性が示唆された。よって BaP 汚染土壌に、ITB9 の散布と植樹を同時に行うことで、リゾレメディエーションシステム構築の可能性が示唆された。

次に図6に示すように、ITB9 の BaP 分解に及ぼすコハク酸濃度の影響を調べたところ、7日間培養時の ITB9 による BaP 分解率は、15 mM コハク酸で 76.8 % と最大になった (横山他, 2016)。汚染地帯では考慮すべき要素が多く、現場での最適 BaP 分解条件の確立は困難であるが、実験室でのデータ

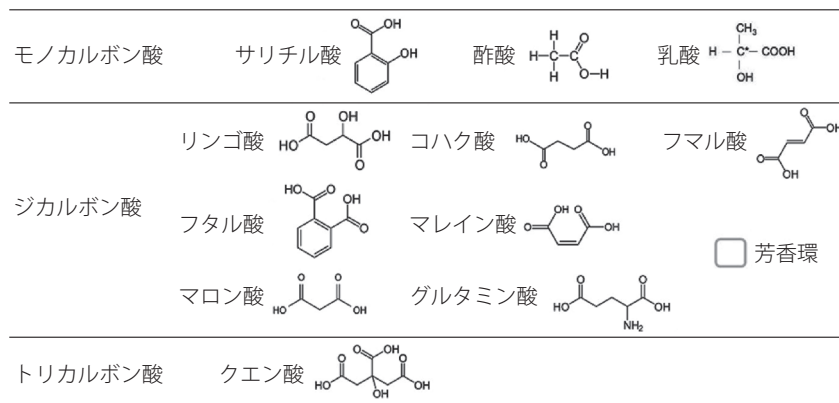


図4：主な有機酸種

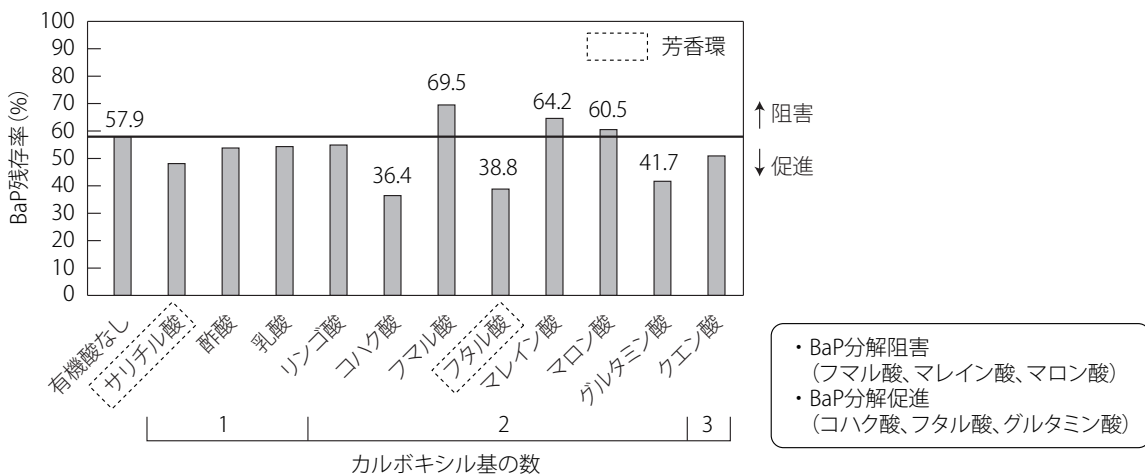


図5：ITB9のベンゾ[a]ピレン分解に及ぼす各種有機酸の影響

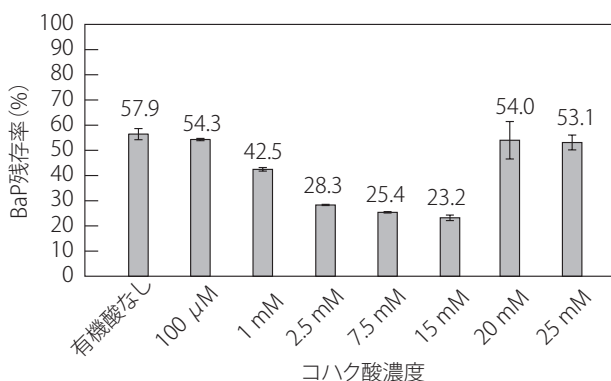


図6: ITB9のベンゾ[a]ピレン分解に及ぼすコハク酸の影響

の蓄積はITB9-植物の共生系によるリゾレメディエーションの実現に寄与すると考えている。

Olleya 属細菌に関しては細菌学的研究が乏しく、現在までに *Olleya algicola* KCTC22024 (Nedashkovskaya et al., 2017)、*Olleya aquimaris* KCTC22661 (Lee et al., 2010)、*Olleya marilimosa* CIP108537 (Nichols et al., 2005)、*Olleya namhaensis* KCTC23673 (Lee et al., 2013) が菌種登録されており、上記4種で *Olleya* 属を形成している。いずれの菌種も詳しい性質は不明で、AHs分解能は報告されていない。そこで上記4株を用いてBAP分解試験を行ったところ、全ての菌種で高いBAP分解活性が認められた。この結果から、BAP分解能はITB9に特有の活性ではなく、*Olleya* 属が持つ特性であることが判明した。また *Olleya* sp. ITB9 の16S rDNA塩基配列は、*Olleya aquimaris* KCTC2266のそれと最も相関性が高く、同種と考えるレベルと判断された。ITB9とKCTC2266のいずれも海水中から単離されており、類似した生態系を持っている可能性が示唆された(山本他, 2019)。

5. ジベンゾ[a, h]アントラセン分解菌と複合汚染の影響

産業地域での有機性廃棄物の不完全燃焼が主原因となり、周辺環境では頻りに四員環～六員環の高分子量PAHsが検出されるが、同時に重金属も検出されることが多く、複合汚染が問題となる。本報ではジベンゾ[a, h]アントラセンC₂₂H₁₄の

分解菌を中心に重金属の影響を述べる。

筆者らは2016年5月に、京浜工業地帯の川崎港周辺から環境水を採集して、PAHs分解菌の単離を試みた。環境水の採集場所を図7に示す。

探索したPAHs分解菌はベンゾ[b]フルオランテン(BbF)、ベンゾ[k]フルオランテン(BkF)、ジベンゾ[a, h]アントラセン(DBA)、ベンゾ[g, h, i]ペリレン(BbhiP)の分解菌で、計11株を単離・解析した。

実験で使用したPAHsの化学構造と重金属複合汚染を図8に示す。単離したPAHs分解菌の分類同定とPAHs分解試験の結果を表3に示す。11株はいずれも異種の細菌であり、同一菌株が1種～4種のPAHsに分解能を持つなど、菌種と分解能が多様性を示した。それらの中でも *Comamonas testosterone* 3ah48、*Stenotrophomonas maltophilia* 2ghi15は供試4種のPAHs全てに分解能を持っていた。特に、3ah48は4種PAHs分解の全てに既報告が無く、新奇有用菌株と判断して研究を継続した。

3ah48のDBA分解に及ぼす有機酸と単糖の影響を図9に示す。培養2日間での *C. testosterone* 3ah48のDBA分解能はコハク酸とグルタミン酸の添加により顕著に増加した。よって、*Olleya* sp. ITB9のBAP分解と *C. testosterone* 3ah48のDBA分解は、いずれも有機酸添加により活性化されることがわかった。

DBA添加培地での *C. testosterone* 3ah48の増殖能に及ぼすコハク酸とグルタミン酸の影響を図10に示す。3ah48を液体培養した後、固体培地に散布してコロニー形成能を比較したところ、有機酸無し液体培地では培養3日目でコロニー形成約10⁷ cfu/mlと最大値を示した。一方、コハク酸存在下では1～2日間培養で約10⁸ cfu/ml、グルタミン酸存在下では1-2日間培養で約10⁷ cfu/mlと最大値を示し、コハク酸とグルタミン酸は、DBA分解と同時に細菌の成長も著しく促進させることがわかった。よって、コハク酸・グルタミン酸を分泌する根圏への3ah48の走化性が示唆された(大木他, 2018)。

PAHsと同時に重金属で複合汚染されている土壌を想定し、3ah48のDBA分解に及ぼす重金属(コバルトCo、亜鉛Zn、銅Cu、クロムCr)の影響を図11に示す。各重金属4 mM～6 mMではいずれもDBA分解が阻害されたが、Cu 2 mMでDBA

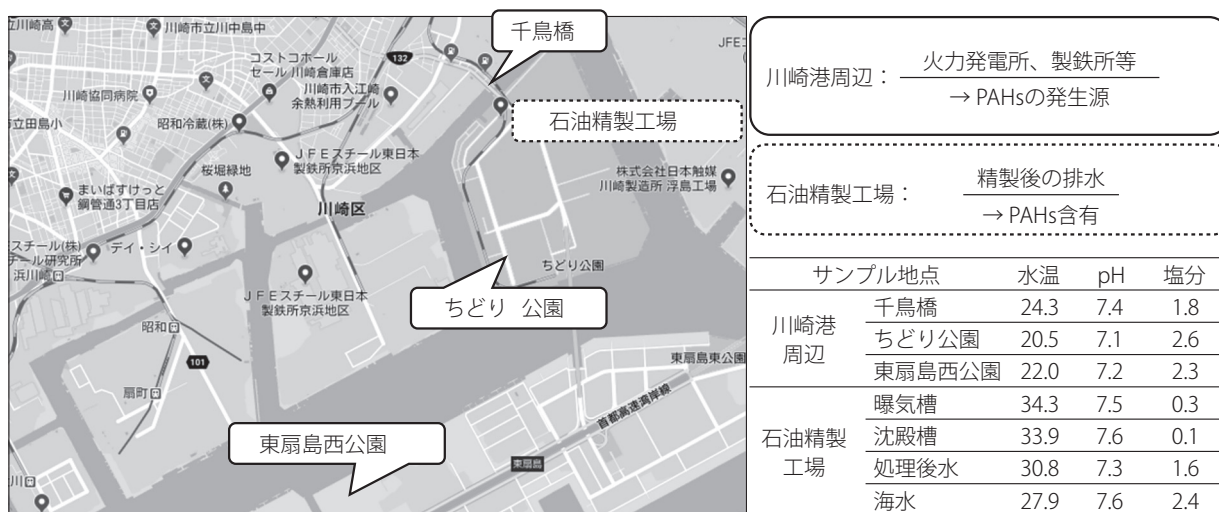
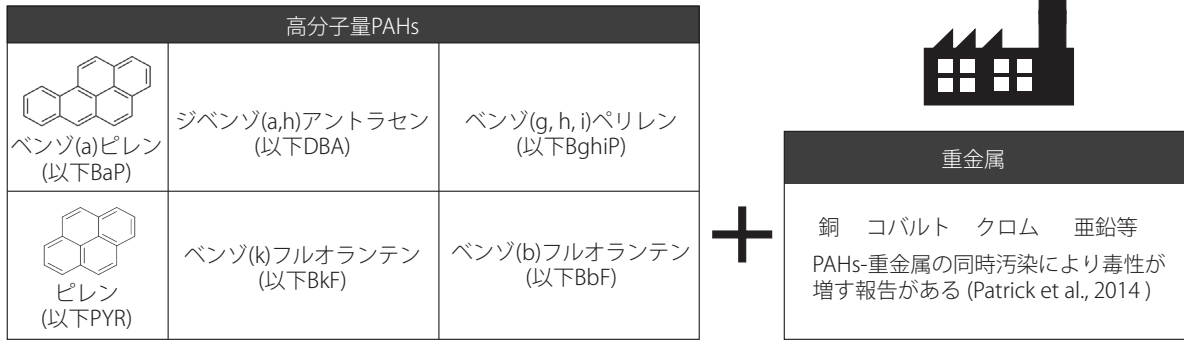


図7: PAHs分解菌の採集

発生源：産業地域での有機物の不完全燃焼



汚染現場では ① 様々な高分子量PAHsの混在
② 重金属によるPAHs生分解の阻害

図8：各種PAHsの化学構造と複合汚染

表3：PAHs分解菌の性状解析

採取場所	菌株番号	同定結果(相同性97～99%)	分解結果	分解報告
東扇島西公園	3ah48	<i>Comamonas testosteroni</i>	BbF/BkF/DBA/BghiP	-/-/-/-
処理後水	2ghi15	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	BbF/BkF/DBA/BghiP	-/-/+/-
海水	3k36/3ghi24	<i>Pseudomonas putida</i>	BkF/BghiP	-/+
曝気槽	1b29//1b31/1b37/1b48/1ghi18 /1ghi20/1ghi27	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	BbF/BghiP	-/+
曝気槽	1ghi1/1ghi7/1ghi9	<i>Microbacterium kitamiense</i>	DBA/BghiP	-/-
東扇島西公園	3ah22	<i>Ensifer adhaerens</i>	DBA	-
沈殿槽	1b26/1b27/1b28	<i>Microbacterium laevaniformans</i>	BbF	-
処理後水	2ah2	<i>Enterobacter cloacae</i>	DBA	-
処理後水	2ah9	<i>Microbacterium oxydans</i>	DBA	-
千鳥橋	3ah2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DBA	-
東扇島西公園	1b21/3b41/3b44/3b48/3b49	<i>Klebsiella oxytoca</i>	BbF	-
処理後水	3ghi21	<i>Aeromonas hydrophila</i>	BghiP	-

■ 4種PAHs分解菌 ■ 2種PAHs分解菌 □ 1種PAHs分解菌

注：+ = 分解報告あり、- = 分解報告なし。

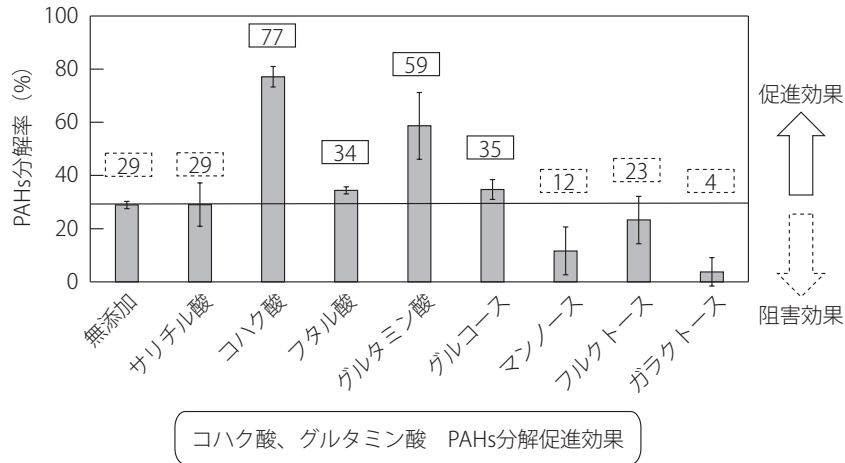


図9：3ah48のDBA分解に及ぼす有機酸と単糖の影響

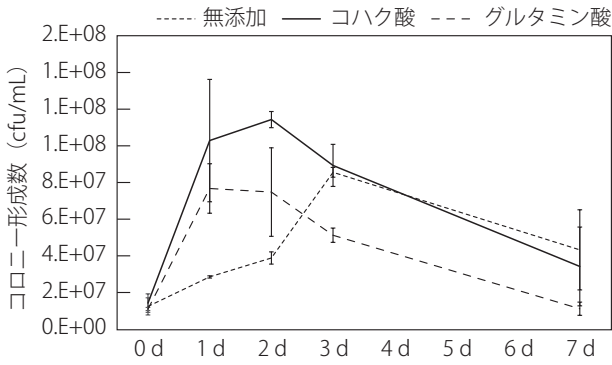


図10：3ah48の増殖に及ぼすコハク酸とグルタミン酸の影響

分解活性が著しく促進された。またCo、Zn、Crにおいても2 mMでは活性が阻害されることは無かった。よって重金属が一定濃度（2 mM）以下では、3ah48のDBA分解活性は阻害されず、維持または促進されることがわかった。

次に、各重金属2 mM添加培養液で、3ah48のDBA分解に及ぼすグルタミン酸添加の影響を図12に示す。CoとZnではグルタミン酸添加によりDBA分解能が大きく増加し、CrとCuでもやや増加が見られた(Okai et al., 2019)。平館らは植物根から分泌された有機酸は、根圏土壌中の金属イオンと錯体を形成して、植物の養分吸収や有害金属の解毒作用に関与していると報告している(平館, 1989)。本研究においても有機酸が重金属に作用して、3ah48のDBA分解が促進されることが明らかになった。

また筆者らは、多摩川に繁殖する植物ヨシの根圏土壌から、窒素固定細菌や脱窒細菌とされるAzohydromonas ureilyticaを

単離して、当該菌株がピレンを分解して、更にその分解能がコハク酸により促進されることを発見した(山本他, 2018)。よってこれらの結果を総合すると、PAHsと重金属の複合汚染場においても、リゾレメディエーションの有効性が示唆された。

6. おわりに

本報では、AHs資化分解菌ライブラリの中で、ベンゼン、ベンゾ[a]ピレン(BAP)、ジベンゾ[a, h]アントラセン(DBA)を中心とする資化分解菌に関して記述した。ベンゼン資化菌11株は9種の細菌、BAP分解菌11株は9種の細菌と未同定菌2株、DBA他PAHs分解菌12株は12種の細菌に分類された。AHs資化分解菌は種多様性が非常に高いこと、同一菌株が複数種のAHsを資化分解する能力を持つ菌が多いことがわかった(山本他, 2020)。

日本では高度経済成長時に、工業地帯を中心にAHs汚染がピークに達した。現代では発展途上国の環境汚染が非常に深刻な問題を呈しており、日本においてもAHs汚染は以前と比べて低濃度となったが、大気や排水から環境中へ排出された後、物質循環や食物連鎖を通して人体に生体濃縮されるなど、その危険性が消失したわけではない。人類は過去—現代—未来と時代を越えて、AHsの危険性と隣り合わせの生活を送っていると述べても過言では無いだろう。従って、私達は土壌や環境水中のAHs濃度を減少させるべく、できる限りの努力を続けて行かねばならない。その方法の1つとして、バイオ(リゾ)レメディエーションは有効と考えられる。例えば、開発計画中の土壌に許容値を超えるAHsや重金属の汚染が発見された時に、土壌に植物を植え、その周囲にAHs資化分解菌を散布する。すると資化分解菌は根酸に走化性を示し根圏で

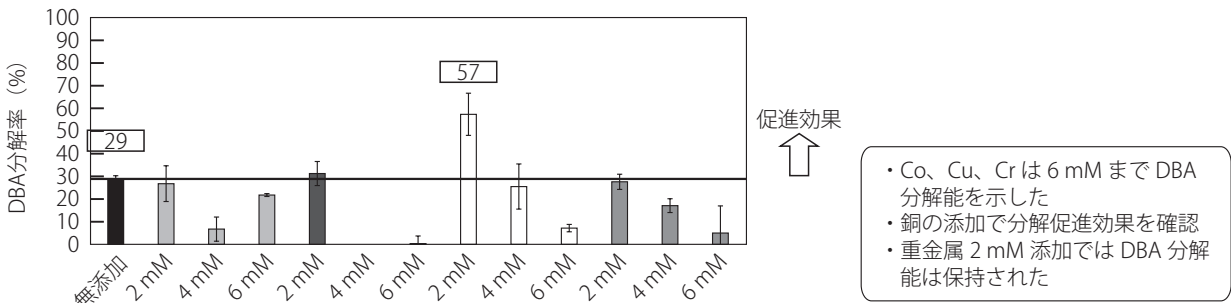


図11：3ah48のDBA分解に及ぼす重金属の影響

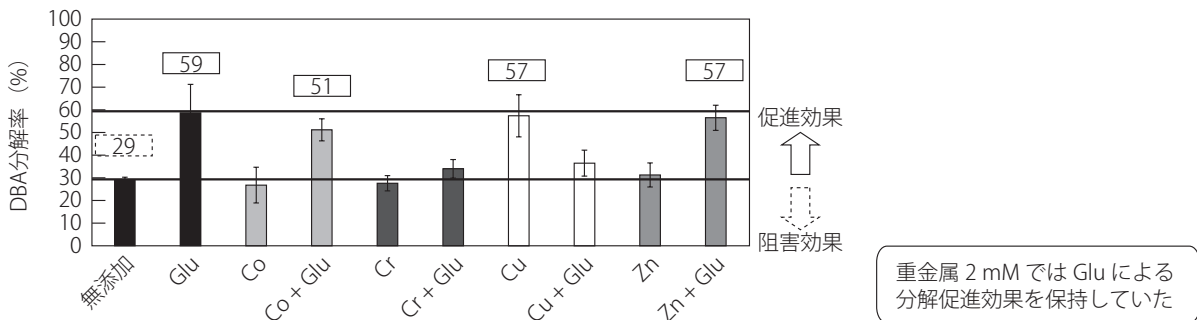


図12：3ah48のDBA分解に及ぼす重金属とグルタミン酸の影響

増殖する。活性化した細菌はAHsを高効率で分解する。AHs分解産物は解毒され植物が根から吸収して、栄養源となるか体内蓄積される。こうしてAHs資化分解菌-植物の共生系によるリゾレメディエーションシステムを構築することができる。更に本システム確立に必要な条件は、散布するAHs分解菌自体がバイオハザードを誘引しないことにある。筆者らはそのために、AHs資化分解菌の保管菌種を拡大して、より一層充実したライブラリを構築する必要があると考えている。

謝辞

本総論は、東京海洋大学・海洋生化学研究室に在籍した学生達が遂行した研究成果をまとめたものである。特に、海老原恒太氏、木原郁美氏、渡邊明弘氏、横山祐人氏、大木雄輔氏、末政和哲氏、山本汐音氏、田村将氏（いずれも大学院海洋科学技術研究科学生）は修士論文にて優れた研究成果を残したため、彼らのデータを中心に本総論に掲載した。ここに感謝の意を表す。

またPAHsの測定に関しては、瀧川美緒氏（技術補佐員）から多大なる技術指導を受けた。ここに感謝の意を表す。

引用文献

- 天野冴子・星純也・佐々木裕子 (2004). 都内環境大気における多環芳香族炭化水素類について. 東京都環境科学研究年報, 94-98.
- 安藤晴夫 (2009). 東京都の運河部・内湾部における底質の長期変動傾向の解析. 東京都環境科学研究年報, 18-25.
- 平館俊太郎 (1989). 根から吸収される有機酸と土壌の相互作用-土壌による吸着反応と有機酸による溶解反応-. 化学と生物, Vol. 37, 454-459.
- 池中良徳・伊藤有希・Eun Heesco・渡邊栄喜・宮原裕一 (2008). 諏訪湖に生息する生物の多環芳香族炭化水素類汚染とその蓄積特性. 環境化学, Vol. 18, 341-352.
- Lee, S. Y., Parks, S., Oh, T. K., and Yoon, J. H. (2010). Description of *Olleya aquimaris* sp. nov., isolated from seawater, and emended description of the genus *Olleya* Mancuso Nicols et al., 2005. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 60, No. 4, 887-891.
- Lee, S. Y., Parks, S., and Yoon, J. H. (2013). *Olleya namhaensis* sp. nov. isolated from wood falls, and emended description of the genus *Olleya* Mancuso Nicols et al. 2005 emend. Lee et al. 2010. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 63, No. 5, 1610-1615.
- Nedashkovskaya, O. I., Kim, S. G., Zhukova, N. V., Mikhailov, and V. V. (2017). *Olleya algicola* sp. nov. a marine bacterium isolated from the green alga *Ulva fenestrata*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 67, No. 7, 2205-2210.
- Nicols, C. M., Bowman, J. P., and Guzenec, J. (2005). *Olleya marilimosa* gen. nov. sp. nov., an exopolysaccharide -producing marine bacterium from the family Flavobacteriaceae, isolated from the Southern Ocean. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 55, No. 4, 1557-1661.
- Okai, M., Kihara, I., Yokoyama, Y., Ishida, M., and Urano, N. (2015a).

Isolation and characterization of benzo[a]pyrene-degrading bacteria from the Tokyo Bay and Tama River in Japan. *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 362, No. 18, fnv143.

- Okai, M., Watanabe, A., Ishida, M., and Urano, N. (2015b). Draft genome sequence of a benzo[a]pyrene degrading bacteria, *Olleya* sp. Strain ITB9. *Genome Announcements*, Vol. 3, e01328-15.
- Okai, M., Ohki, Y., Yamamoto, S., Takashio, M., Ishida, M., and Urano, N. (2019). *Comamonas* sp. 3ah48 is a dibenz[a,h]anthracene-degrading bacterium that is tolerant to heavy metals. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 68, 589-596.
- 大木雄輔・岡井公彦・石田真巳・浦野直人 (2018). 多環芳香族炭化水素 (PAHs) 分解菌に関する研究6—油流入水圏由来細菌による高分子量PAHsの分解諸条件の検討—. 平成30年度日本水産学会春期大会講演要旨集, 146.
- 尾崎正明・山下洋正 (2004). 底泥中の有機性有害物質の実態および挙動に関する研究. 平成16年度下水道関係調査年次報告書集, 175-181.
- 尾崎則篤・棚池誠・小島啓輔・金田一智規・福島武彦 (2005). 大気および水環境中のPAHsの発生と拡散. 環境工学研究論文集, Vol. 42, 1-8.
- Ouvrard, S., Lapole, D., and Morel, J. L. (2006). Root exudates impact on phenanthrene availability. *Water, Air, & Soil Pollution*, Vol. 6, 343-352.
- 高畑陽・桐山久・大石雅也・有山元茂 (2008). 注水バイオスパーキング工法によるベンゼンの浄化技術. 土壌・地下水汚染の浄化および修復技術—浄化技術からリスク管理、事業対策まで—, 68-77, エヌ・ティー・エス.
- 高畑陽 (2013). ベンゼン汚染土壌・地下水の好氣的及び嫌氣的バイオレメディエーション技術の開発. 環境バイオテクノロジー学会誌, Vol. 13, 111-116.
- 東京都下水道局 (2019). 数字でみる東京都の下水道. <https://www.gesui.metro.tokyo.lg.jp/business/kanko/kankou/2014tokyo/05/index.html>.
- 矢木修身 (2008). 生物化学的浄化法による浄化技術. 土壌・地下水汚染の浄化および修復技術—浄化技術からリスク管理、事業対策まで—, 47-58, エヌ・ティー・エス.
- 山本汐音・石田真巳・岡井公彦・浦野直人・鈴木耕太郎・高塩仁愛 (2018). 水圏植物根圏微生物が持つ多環芳香族炭化水素分解能の解析. 平成30年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 82.
- 山本汐音・松島彩・石田真巳・岡井公彦・武井俊憲・高塩仁愛・浦野直人 (2019). 東京湾由来新奇細菌 *Olleya* sp. ITB9 と *Olleya* 属他菌種細菌におけるベンゾ (a) ピレン分解能の比較. 令和元年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 32.
- 山本汐音・石田真巳・岡井公彦・武井俊憲・高塩仁愛・浦野直人 (2020). 東京近郊水圏由来の芳香族炭化水素分解菌とその酵素系の解明. 令和2年度日本水産学会春期大会講演要旨集, 124.
- 横山祐人・岡井公彦・木原郁美・渡邊明弘・滝川美緒・石田真巳・浦野直人 (2016). ベンゾ (a) ピレンの分解に関する研究-4 新奇 BAP 分解菌 *Olleya* sp. の PAHs 分解に及ぼす諸条件の検討. 平成28年度日本水産学会春期大会講演要旨集, 156.

(受稿：2020年4月21日 受理：2020年5月7日)