

論文内容の要旨

申請者氏名 岩橋 正英

本論文は、吸水性に特徴をもつ汎用合成ポリマーであるポリアクリル酸ソーダの微生物による分解について、分解経路の解明及び分解に関与する細菌共生系の各微生物の動態の解析を行ったものである。

著者はまず自然界より分離された複数の共生細菌からなるポリアクリル酸ソーダ分解微生物をポリアクリル酸ソーダを単一炭素源とする培地で培養し、培養液より分解代謝産物を分離精製した。分子量約2,000以下において分子量分布が低分子側へシフトしより低分子の化合物が培地中に蓄積していることを認め、この化合物をESI-MSで分析したところ、分子量200の化合物であることがわかり、NMR及びX線結晶構造解析の結果、末端カルボキシル基のついた炭素がカルボニル炭素であることを明らかにした。さらに、この末端構造をした様々な長さの分子が培地中に存在していることをHR-MSによって明らかにした。また、もう1種類の分解代謝産物の存在とその構造も明らかにした。これらの結果から、ポリアクリル酸ソーダの微生物による分解経路を推定するに至った。すなわち、1) 末端メチレン基のカルボニル基への酸化、2) 脱炭酸及び脱水素によるアルデヒド化合物の生成、3) アルデヒド基のカルボキシル基への酸化、4) 酢酸の脱離がくり返されることによって、1アクリル酸単位ずつ短くなっていく経路である。

一方、ポリアクリル酸ソーダの分解機構について、共生系を構成する細菌を微生物学的に解析した。まず、共生系の解析にこれまで利用されているコロニーカウント法及び蛍光染色を用いた顕微鏡観察を行った。コロニーを形成させることにより3種の細菌が存在することを確認した。さらに、それらの細菌数の変動を観察することにより3種の細菌の培養経過に伴う動態を明らかにした。また、分解代謝産物の消長と合わせてそれぞれの細菌の推定分解経路での役割を考察した。

さらに、培養液中の細菌を蛍光色素で染色し、顕微鏡で観察することによりもう1種類の培養困難な細菌が存在することを明らかにした。さらに、その細菌の培養経過に伴う変動状況から、ポリアクリル酸ソーダ分解に重要な役割を演じていることを示した。このような、培養困難な細菌を含む複合微生物系に対して、フローサイトメトリーを適用することを試みた。その結果、構成細菌をサイグラム上で分離することに成功し、より簡便な共生系の動態解析への道を開いた。

論文審査結果の要旨

化学合成ポリマーは、多様な分野で広く用いられ今日の文明生活の根幹的物質であるとともに、環境問題においては、環境汚染物質として認識されている。いくつかの合成ポリマーの微生物分解が明らかにされているが、一般には生分解性に極めて乏しい化合物とされている。

ポリアクリル酸ソーダは、その大きな吸水性を利用して多様な分野で広く使用されており、環境中に拡散している。その微生物による分解の可能性についての研究に、複数の細菌により構成される共生系による分解が認められた。本論文は、この細菌共生系を用いて、ポリアクリル酸ソーダの分解機構について、2つの面から解明することを明らかにすることを目的に行われた研究成果をとりまとめたものである。すなわち、分解経路の解明並びに共生系を構成する微生物の変動とそれぞれの分解への関与の解析である。

分解経路については、ポリアクリル酸ソーダを単一炭素源として培養した培養液より分解代謝産物を単離し、化学構造を明らかにした。その結果、末端のメチレン基のカルボニル基への酸化にはじまり、ついで、脱炭酸及び脱水素が起り、さらに、生成するアルデヒド基のカルボキシル基への酸化につづく酢酸の脱離というプロセスがくり返されることにより分解されるという分解経路を推定するに至った。

共生系の解析については、共生系を構成する4種の微生物について、コロニーカウント法及び色素染色による顕微鏡下での菌数カウントにより、それぞれの細菌数の変動を経時的に追跡し、分解代謝産物の消長との関係から分解経路におけるそれぞれの微生物の関与について考察した。一方、複合微生物系の解析に用いることが可能になってきたフローサイトメトリーをこの細菌共生系に適用し、構成細菌をサイトグラム上で分離することに成功し、共生系の動的解析をさらに簡便かつすみやかに示した。

以上のように、本論文は合成ポリマーポリアクリル酸ソーダを分解する細菌共生系について、分解経路及び微生物相の解析を行ったものであり、環境科学において学術上さらには応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。