

| | |
|---------|--|
| 氏名(本籍) | 高 宇 (中国) |
| 学位の種類 | 博士(農学) |
| 学位記番号 | 博甲第6315号 |
| 学位授与年月日 | 平成24年7月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 審査研究科 | 生命環境科学研究科 |
| 学位論文題目 | Study on Decomposition of Toxic Substance, Microcystin from <i>Microcystis aeruginosa</i> under Electrochemical Condition (<i>Microcystis aeruginosa</i> 由来産生毒性物質、microcystin の電気化学的分解に関する研究) |
| 主査 | 筑波大学教授 農学博士 杉浦 則夫 |
| 副査 | 筑波大学教授 博士(農学) 張 振 亜 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士(理学) 内海 真生 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士(生物工学) 楊 英 男 |

論文の内容の要旨

世界各地の閉鎖性水域で顕在化している *Microcystis* 属、*Anabaena* 属等のラン藻類によって産生される Microcystin (MC) は、青酸カリウムの数十倍と極めて強い毒性を示し、肝障害の原因、また発ガンプロモーターとして注目されており、公衆衛生上、水道水への混入が危惧され、深刻な問題となっている。そこで世界保健機関 (WHO) では、最も毒性の強い MC である MC-LR の指針値を $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ と定めている。従って藻類の異常増殖 (アオコ) の効率的な除去対策はもとより、MC など毒性物質の分解除去は、将来の水環境を保全する上で喫緊の課題であると言え、処理技術の開発は焦眉の急となっている。そこで本研究では、新しい処理技術の開発を目的に、液体電解質非存在下において水の電気分解が可能な電解装置を作成し、本装置を用いて、水中の MCs (MC-RR、MC-YR および MC-LR) の分解特性、毒性物質産生ラン藻類 (*M. aeruginosa*) の増殖および MCs 産生の特性について検討した。

本研究で作成した電解セルは、液体電解質非存在下で効率的に MC を分解でき、高濃度 ($500 \mu\text{g L}^{-1}$) から低濃度 ($40 \mu\text{g L}^{-1}$) の条件下、異なる電流密度 ($19.3, 57.9, 96.5, 135.1, 173.7 \text{ mA cm}^{-2}$) の条件で、いずれも効果的に MC の分解が可能であることが判明した。さらに、1 種類の MC の分解速度は 3 種類の MC (MC-RR、MC-YR、MC-LR) を混合した実験系よりも速かった。混合条件での分解実験では、3 種類の MC の分解速度に大きな差は認められなかった。ついで MC の分解機構を明らかにするため、反応液中の各種物質の分解プロセスの解析を行ったところ、MC の分解にはヒドロキシラジカルが関与している可能性を見出した。

次に、電解セルによる 2 種類のラン藻類 *M. aeruginosa* 株 (NIES-1086、NIES-102) の細胞増殖と MCs (MC-RR、MC-YR および MC-LR) 産生の影響を検討した。その結果、空気曝気系および対照系 (静止条件) では、細胞密度が経時的に増加したのに対し、本装置を用いた曝気系では、培養開始初期の 2 日後から顕著に減少した。また、細胞外および細胞内 MCs 濃度も、電解セル曝気系では明らかに低い値を示した。これらの結果から、本装置の電解セル曝気系では 2 種類の *M. aeruginosa* 株の細胞増殖および MC 産生を抑制できることが明らかとなった。電解セル曝気系の細胞内 MCs 濃度が空気曝気系やコントロールよりも低い値を示し

たことから、*M. aeruginosa* 株の MCs 産生活性が電解セル曝気により抑制されることが明らかとなった。

次に、電解セル曝気系で毒性物質産生ラン藻類の MC 産生能が抑制されるかどうか証明するにあたり、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-qPCR) を用い、4 つの異なる条件下 (電解セル、純酸素曝気、空気曝気およびコントロール) で培養した *M. aeruginosa* NIES-1086 の MC 合成酵素遺伝子 *mcyB* と *mcyD* の転写発現量変化および細胞増殖を解析した。純酸素曝気系を含む対象系と電解セル曝気系を比較したところ、電解セル曝気系で *mcyB* と *mcyD* 遺伝子の転写 (cDNA/DNA)、MC-LR の産生と細胞増殖がいずれも抑制されていることが明らかとなった。転写量は *mcyB* と比較して少ないが、*mcyD* も *mcyB* と同様の傾向を示した。ヒドロキシラジカルのような酸化ストレスの存在が、*mcyB* と *mcyD* 遺伝子の転写レベルの減少の主な原因であると推定できた。また、純酸素曝気系の細胞密度変化を空気曝気系やコントロールと比較したところ、高溶存純酸素濃度が *M. aeruginosa* の成長に若干の抑制効果を有することが認められた。

審査の結果の要旨

現在、世界中で進展している都市への人口集中化と、それに伴う周辺地域の水環境の富栄養化によって生じている毒性物質産生ラン藻類によるアオコの異常発生が水の安全性を脅かしている。

本研究は、Microcystin (MC) の分解と、毒性物質を産生するラン藻類、*Microcystis*、*Anabaena*、*Planktothrix*、*Nostoc* などの効果的な増殖抑制を目指し、液体電解質の非存在下において水の電気分解が可能な電解セルを作成して、MCs (MC-RR、MC-YR、MC-LR) の分解特性、毒性物質産生ラン藻類 (*Microcystis* 属) の MCs 産生抑制効果について検討したものである。

電解セルが、液体電解質非存在下でも MC を顕著に分解できることを明らかにした。低濃度および高濃度の MC 条件、電流密度を変化させた条件での分解実験を行い、詳細かつ緻密に分解の最適条件を検討している。さらに一連の実験から、電解セルによる MC 分解には、電極で発生していると考えられるヒドロキシラジカルが作用していることも明らかにしている。一方、2 種類の *M. aeruginosa* 株の細胞増殖と MCs (MC-RR、MC-YR、MC-LR) 産生への影響評価実験から、電解セル曝気環境が *M. aeruginosa* 株の細胞増殖と MC 産生を抑制 (細胞内 MC 濃度の低下) することを明らかにした。同時にリアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-qPCR) による *M. aeruginosa* NIES 1086 の MC 合成酵素遺伝子 *mcyB* と *mcyD* の転写レベルの変化を解析した結果、*mcyB* と *mcyD* 遺伝子の転写 (cDNA/DNA) が電解セル曝気条件下で抑制されていることを証明した。

以上の知見は、人体にも甚大な影響を与える Microcystin の効率的な分解に関する新たな手法を提案するものであり、環境水中に存在する MCs の効率的な分解が可能であることを明らかにしたことは大きな成果である。さらに毒性物質産生ラン藻類の増殖および MC 合成活性が本電解セルによって抑制可能であることの証明は、次世代の水処理技術を展望する上で非常に大きな意義を持つ。将来的に、この電解セルの実用化により、組み込んだ浄化装置は、特に少量の塩類 (電解質) しか存在していない水源池および浄水処理プロセスにおいて、現場での効果的な MC 除去とラン藻類の増殖および MC 産生抑制を可能とする有効な処理方法に繋がることを期待できる。

平成 24 年 6 月 8 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。