

氏名	綿引 沙織		
学位の種類	博 士 (農学)		
学位記番号	博 甲 第 9073 号		
学位授与年月日	平成 31年 3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	塩素化エチレン汚染の生物浄化に伴う土壤微生物叢への影響		
主査	筑波大学教授	博士 (農学)	高谷 直樹
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	青柳 秀紀
副査	筑波大学教授	博士 (工学)	野村 暢彦
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	中村 顕

## 論 文 の 要 旨

近年、塩素化エチレンによる土壤・地下水汚染が問題となっており、土壤微生物叢への影響が少なく迅速に汚染化合物を除去できる浄化方法の開発に注目が集まっている。塩素化エチレン化合物による汚染は低濃度で広範であることが多いため、この浄化には微生物を用いた生物浄化（バイオレメディエーション）が適している。バイオオーグメンテーションは、汚染化合物を分解する微生物を汚染部位へ導入することにより汚染物質を除去するバイオレメディエーション技術の一つである。塩素化エチレンであるトリクロロエチレンと *cis*-ジクロロエチレン (TCE/cDCE) による汚染のバイオオーグメンテーションでは、嫌気性細菌および好気性細菌の両方が使用されるが、現在主流である嫌気性細菌を用いた手法では、TCE/cDCEを分解する際に有害な塩化ビニル (VC)が生産されることが問題となっている。さらに、土壤中のVCの分解は極めて遅いことから、VCによる二次的な汚染も懸念される。

著者は、第1章において、環境汚染およびその微生物浄化の現状と、近年利用されている微生物叢・微生物機能の解析手法について概説した。特に、日本における土壤・地下水汚染の現状や、培養依存的・非依存的な微生物叢解析手法と微生物機能解析手法に焦点を当て論じた。また、バイオオーグメンテーションに際しては、導入した微生物の汚染サイト内での挙動や土壤微生物叢の変化がしばしば引き起こされる。この問題を解決するための新たな試みとして、好気性細菌 *Rhodococcus jostii* RHA1株 (RHA1株) をTCE/cDCE汚染土壤に導入し、この土壤での挙動とTCE/cDCEの分解への寄与を検討することの重要性を述べた。また、メタゲノムとメタトランスクリプトームを組み合わせたマルチオミクス解析を用いて、この時の土壤微生物叢の変化の解析の重要性についても論じた。

第2章では、著者は、実際にRHA1株をTCE/cDCE汚染サイトに導入したバイオオーグメンテーションを行い、浄化処理に伴うRHA1株の土壤中での挙動、TCE/cDCE分解への貢献および土壤微生物叢の変化をメタゲノムシーケンシングにより解析した。その結果、RHA1株が当該サイトのTCE/cDCE汚染を効率

良く分解することが示された。また、RHA1株の導入後1日目には、RHA1株が当該サイトの優占種となり、RHA1株の導入により微生物叢が大きく変化することが示された。また、その後、RHA1株が死滅し、嫌気性の*Dehalococcoides*属および*Geobactor*属の細菌が増殖しTCE/cDCEを分解することが示された。メタトランスクリプトーム解析の結果、TCE/cDCE分解酵素遺伝子は、RHA1株の導入直後に最も高発現することが明らかとなった。本研究の成果は、好気性微生物を利用したバイオオーグメンテーションの際に、導入微生物による土壤微生物叢の変化が起こることを示すものであり、バイオオーグメンテーションの戦略を考える上で重要な知見を与える。

本論文の研究成果によって、好気性細菌であるRHA1株がTCE/cDCE汚染土壤のバイオオーグメンテーションに有効であることを示された。また、本研究は、バイオレメディエーションにおけるTCE/cDCE分解微生物の代謝と役割を理解するためにマルチオミクス解析が有用であることも示した。今後、様々なTCE/cDCE汚染サイトのバイオレメディエーションにおいて同様の解析を行うことによって、現在、日本各地で問題になっているTCE/cDCEによる環境汚染の解決のために最適なバイオレメディエーション法の選択や計画をすることが可能になると考えられる。本研究は、このための基盤となる知見を与えた点で、バイオレメディエーション技術の発展に大きく貢献するものである。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、好気性のTCE/cDCE分解菌が塩素化エチレンによる環境汚染を軽減させるために有効であることを示した。好気性菌を用いた塩素化エチレン汚染の浄化の研究の例は多くないことから、本研究成果は、今後の関連するバイオレメディエーション技術の開発に大きく貢献する。また、汚染源への分解菌の導入によって引き起こされる微生物叢の変化が一過的なものであることの発見は、土壤微生物叢の可塑性と頑強性を示す例として、微生物生態学および環境微生物学分野における科学的価値が高い。

平成31年 1月11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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。