

論文の内容の要旨

専攻名 システム創成工学専攻

氏名 落合 聖史

細菌はその菌体密度により特定の遺伝子発現が制御されるQuorum Sensing (QS)機構を有している。QSはオートインデューサーと呼ばれるシグナル物質によって制御されており、多くのグラム陰性細菌では、シグナル物質としてアシル化ホモセリンラクトン(AHL)が用いられている。菌体密度が高い環境の一例として活性汚泥が挙げられる。活性汚泥を用いた排水処理は先進国を中心に広く活用されているが、その内部を構成する細菌およびQS機構の存在、関与などについては明らかになっていない。また、近年、活性汚泥処理後に膜ろ過を導入する例が多いが、膜の目詰まりが問題となっている。膜の目詰まりの主な原因は微生物の付着と増殖によるバイオフィルムの形成である。バイオフィルムも活性汚泥と同様、菌体密度が高い環境であり、QSが活発に機能していると考えられる。しかし、活性汚泥由来の細菌によるバイオフィルム形成に関する詳細な検討はこれまでにない。

本研究は、活性汚泥構成細菌の中からAHL合成細菌およびAHL分解細菌を単離し、AHL合成細菌によるバイオフィルム形成について、また、AHL分解細菌のAHL分解機構について、それぞれの解析結果を報告している。AHL合成細菌である*Aeromonas hydrophila* R2株のAHL合成遺伝子破壊株を作成し、バイオフィルム形成とQSとの関連について報告している。また、AHL分解細菌である*Acinetobacter*属細菌0oi24株からAHL分解遺伝子を取得し、その機能と由来について報告している。本論文は、活性汚泥由来のAHL合成細菌およびAHL分解細菌の取得と機能解析に関する初めての報告である。

本論文は全5章で構成され、各章の概要は以下の通りである。

第1章は、序論であり、研究の背景と研究目的を提示している。

第2章は、本研究で用いた菌株、プラスミド、使用機器について記している。

第3章は、活性汚泥処理システムからのAHL合成細菌の単離と同定、および、そのバイオフィルム形成能とQSとの関連について述べている。民間工場内設置の活性汚泥処理システムから157株のAHL合成細菌を単離、同定し、その98%が*Aeromonas*属細菌であることを明らかとしている。その中でもっとも存在割合の高かった*A. hydrophila* R2株の解析を行い、C4-HSL、および、C6-HSLを生産していることを明らかとし、また、そのAHL合成遺伝子の破壊株の作製に成功している。バイオフィルム形成実験の結果、*A. hydrophila* R2は、AHLを用いたQSによってバイオフィルム形成を制御していることを明らかとしている。

第4章は、AHL分解細菌の単離と同定、および、その分解機構と分解遺伝子について述べている。栃木県内7ヶ所の下水処理センターの活性汚泥よりAHL分解細菌を単離、同定し、*Acinetobacter*属細菌が高い割合で存在していることを明らかとしている。AHL分解細菌としての

*Acinetobacter*属細菌についての報告はこれまでほとんどない。AHL分解活性の高いOoi24株のAHL分解遺伝子*amiE*を取得し、解析を行い、AmiEはAHLのアシル鎖を切断するAHLアシラーゼであること、また長鎖AHLに対して強い分解活性を有していることを明らかとしている。また、系統解析の結果、AmiEは既知のAHLアシラーゼとは系統の異なるアミダーゼファミリーに属することを明らかとしている。さらに、*amiE*は*Acinetobacter*属細菌に広く保存された配列ではないこと、および、外部から転移してきた可能性があることを明らかとしている。

第5章は、要約として、論文内容全体をまとめ、さらに、AHL合成細菌、および、AHL分解細菌の活性汚泥処理技術への応用に関する今後の展望についても述べている。