

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉田 浩爾

嫌気微生物生態系において有機物は、複数種の微生物によって段階的な酸化を受け、最終的には二酸化炭素及びメタンへとなる。こうした嫌気的な有機物分解は、バイオマスからのエネルギー生産、あるいはメタンによる地球温暖化といった観点から、注目を集めてきた。嫌気環境下における有機物の段階的酸化において、最終還元等量処理を担う微生物(ex.メタン菌)とその栄養共生菌(syntroph)との共生関係は、しばしばボトルネックとなる事が知られており、極めて重要である。従来、それらの関係は、極めて低分圧の溶存水素あるいはギ酸を介した、メタン共生菌からメタン菌への還元等量伝達(あるいは電子伝達)によるものとされてきたが、これを直接観察した報告はなかった。本研究では、水素以外にも、鉄還元細菌で報告されているような電子メディエータを介した細胞外電子伝達の存在を想定し、この還元等量(電荷)移動をより直接的に観察することを試みた。

1) Lovley, D.R. et. al. 2005. *Nature* 382: 445-448

[I-1] 電気化学的分離共培養

こうした目的の元に、電気化学的分離共培養と呼ぶ手法を考案し、これに用いる培養槽を構築した。この共培養槽は、プロトン交換膜を介してメタン共生菌 *Pelotomaculum thermopropionicum* DSM 13744^T とメタン菌として *Methanothermobacter thermautotrophicus* NBRC 100330^T を置き、それぞれの槽に炭素電極を挿入した。両極間を移動する電荷量はコンデンサによって積分し、積分値をコンデンサの両端電圧として検出した。

その結果、電極を接続しなかった場合および Methyl Viologen を添加しなかった場合、メタンの生成は殆ど観察されず、また、Methyl Viologen を添加し、メタン共生菌を添加しなかった場合も 3 μ mol と若干のメタン生成が観察されたものの、これと比較し、電極の接続、Methyl Viologen、メタン共生菌の植菌の全てを行ったものでは、9~18 μ mol と有意にメタン生成が上昇した。また、移動電荷の一部を観測することに成功した。これより水素によらないメタン共生菌とメタン菌の間の種間電子伝達を直接的に示された。

[I-2] メタン共生菌の電気培養による分離共培養槽の評価

また、本分離共培養槽の開発過程において、メタン共生菌の電気培養を開発指標とした。その結果、難培養微生物であるメタン共生菌 *Pelotomaculum thermopropionicum* DSM13744^T 及び *Anaerolinea thermophila* NBRC100420^T の電気培養が可能であることを示した。

[II] 嫌気消化汚泥の電気化学的評価

本研究では Methyl Viologen 及び電極を介した種間電子伝達を示した。しかし、Methyl Viologen は人工的に添加したものであり、こうした関係が自然界で成り立つのかは分からない。

そこで、嫌気環境に対して電気化学的分析を行い、Methyl Viologen に相当するような電気化学的活性がないか、調査した。

その結果、DPV によって Methyl Viologen に近い $-0.45\text{V}(\text{vs. SHE})$ 付近に電気化学的活性が検出された。このことは、本研究によって示されたような種間電子伝達が、実際の嫌気環境下でも起こりうる事を示唆するものである。

[3] 総括

メタン共生菌 *P. thermopropionicum* からメタン菌 *M. thermoautotrophicus* への電荷移動が観察され、また、それによるメタン生成が観察された。これにより、従来、低分圧の水素によるものとされていたメタン共生菌からメタン菌への還元等量の移動が、人工的に添加した電子メディエータを介しても行われうる事が示された。さらに、嫌気環境において添加した電子メディエータと同様の電気化学的活性が検出されたことから、こうした水素以外の還元等量伝達が自然環境下でも起こりうる事が示唆された。この事は、従来の嫌気環境における還元等量処理に新たな観点を与えるものであり、極めて興味深い。また、難培養微生物であるメタン共生菌の電気培養技術の開発にも筋道をつけた事は、嫌気微生物生態系のさらなる解明に大いに貢献すると期待される。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位としてふさわしいと認めた。