

土壌細菌によるビスフェノール A の分解

機能材料工学専攻

天田 啓

1. はじめに

ビスフェノール A (BPA、図 1) はポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂の原料として世界中で生産されている化学物質である。1996 年に世界的なベストセラーとなった「奪われし未来」の中で、BPA がエストロゲン活性を有することが紹介された。このことから BPA は広く知られるようになり、我が国における内分泌かく乱物質（環境ホルモン）問題の発端となった化学物質である。最近の研究で、環境から検出されるような低濃度では人体への影響を及ぼさないことが報告され、環境ホルモン騒動は急速に鎮静化した。しかしながら、新たなリスク知見も出現していることや、水棲生物に対する影響が無視できないことなどから、BPA 汚染除去技術を開発しておく必要性があるものと考えられる

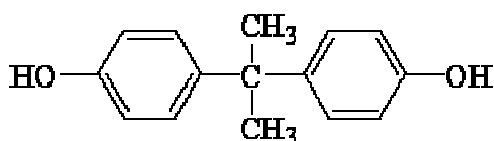


図 1. ビスフェノール A の構造式

環境中における BPA は、多くの下水処理場流入水中で検出されているが、除去率はほぼ 100% と良好に除去されている。この点に着目し、活性汚泥から数種類の BPA 分解菌が分離されている。しかしながら、実際にどのような代謝経路により BPA が分解されているかの詳細な分子機構はわかっておらず、また代謝産物による新たな環境ホルモン様活性が指摘されている。

そこで本研究では、環境中から BPA 分解菌を分離し、その代謝経路を解明するとともに、環境ホルモン様活性をもつ代謝中間体の同定を行うことを目的とした。ここでは、環境中から BPA 分解菌を分離したこと、その分解菌の特徴付けについて報告する。

2. 実験方法

[2-1] BPA 分解菌の分離

福岡県内の河川から採取したサンプルから、BPA を唯一の炭素源とする基本培地を用いた集積培養を行い、BPA 分解菌を分離した。

[2-2] BPA 分解菌の特徴づけ

分離した BPA 分解菌のコロニーの観察、またグラム染色および光学顕微鏡による観察を行った。また、分離した菌の同定のために、16S rRNA 遺伝子の部分配列による分子系統的な解析を行った。

[2-3] BPA 分解菌による BPA 分解試験

数種類の液体培地を用いて、BPA 分解菌による BPA 分解試験を行った。このとき、初期 pH や培養温度、培地の組成（糖、微量金属イオンの投入量）などを変化させ、BPA 分解菌の増殖および BPA 分解に及ぼす影響を検討した。

3. 結果と考察

[3-1] BPA 分解菌 BD-1 株、BD-2 株の性質

集積培養で分離された BPA 分解菌 BD-1 株および BD-2 株は、基本寒天培地上では、ともに小型で縁のはっきりした円形のコロニーを形成したが、色は BD-1 株では白～クリーム色、BD-2 株は黄色を呈した。グラム染色および光学顕微鏡の観察より、両者

ともグラム陰性の桿菌であった。また、16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列の解析結果から、BD-1 株は *Sphingomonas* 属、BD-2 株は *Novosphingobium* 属に分類された。

基本培地を用いた BPA 分解試験では、BD-1 株、BD-2 株ともに、48 時間で BPA をほぼ分解した (図 2)。

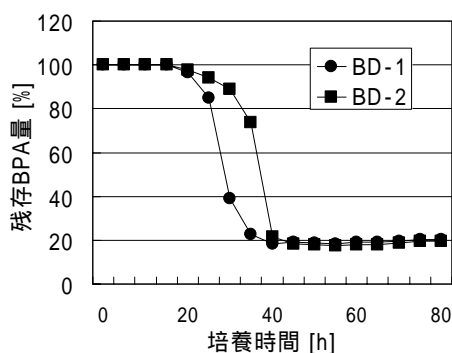


図 2 . BPA 分解菌による BPA 分解

[3-2] BPA 分解に及ぼす培養条件

富栄養培地 (LB 培地および 40 倍に希釈した LB 培地) と貧栄養培地 (基本培地) にて培養を行ったところ、BD-2 株はすべての培地で増殖が見られた。しかしながら、BD-1 株は基本培地でのみ生育が見られ、富栄養培地では増殖が見られなかった。

基本培地による液体培養の初期条件として、pH を 4, 7, 10、培養温度を 20, 30, 40 と変化させた。それぞれの条件下で菌体増殖と BPA 分解を調べた結果、BD-1 株の方がやや塩基性を好み、BD-2 株の方がやや酸や高温に強いことなどがわかった。

[3-3] BD-1 株の増殖に及ぼす Mg イオンの影響

BD-1 株は基本培地では増殖し BPA を分解するが、富栄養培地では増殖が見られなかった。このことから、BD-1 株の増殖および BPA 分解に必須の金属イオンが基本培地には含まれ、富栄養培地には足りないこ

とが考えられた。そこで、基本培地の構成成分中の微量元素イオン (5 種類) を富栄養培地 (40 倍希釈した LB 培地) にそれぞれ加え、BD-1 株の増殖および BPA 分解が見られるかを検討した。その結果、富栄養培地に Mg イオンを加えたときに、増殖および BPA 分解が見られた。

さらに、基本培地から微量元素イオンを 1 種類ずつ除くことで、BD-1 株の増殖および BPA 分解が起こらなくなるかを調べた。その結果、Mg イオンを含む培地でのみ、BD-1 株の増殖および BPA 分解が見られた。

そこで、Mg イオンが BD-1 株の増殖に影響を及ぼしているのか、BPA 分解に必須であるかを調べるために、炭素源としてグルコースを用いて BD-1 株を培養した。その結果、グルコースを加えた場合でも、Mg イオン存在下でのみで増殖が見られた。これらの結果から、Mg イオンは BPA 分解ではなく、菌体の増殖に影響を及ぼしていることが示唆された。

4 . 今後の方針

BPA 分解菌による環境中での BPA 分解の動態について知見を深め、さらに、BPA の代謝経路の詳細な分子機構を解明するために、BPA 分解酵素の遺伝子をクローニングし、分解酵素の大量発現系を構築し、酵素の生化学的な解析を行いたいと考えている。

5 . 謝辞

本研究を遂行するにあたり協力していただいた、下條光浩、柳里恵、太田健、前田洋輔、前田智之、竹上義人、竹下公平の各位に感謝します。