

有害無機物質の選択的除去機構に関する研究

分担研究者 福士謙介 東京大学環境安全研究センター助教授

研究要旨

本研究はタンパク質と重金属の選択的親和性を利用して水中からの微量有害無機物質（主に有害金属類）を除去するシステムを構築することを目的としている。本年度は活性汚泥細菌叢中から重金属に親和性を持つタンパク質を検索することを行い、予備的に2種のタンパク質が存在することが示唆された。

A. 研究目的

金属は地球上に多く存在する物質で少量であれば生体には好影響を与える物も少なくないが、高濃度では多くの場合生体代謝機能を阻害する。近年たとえ濃度が微量であっても慢性的に生体に曝露した場合、悪影響があるという指摘があり、微量であっても水を再利用する場合など、生活圏滞留時間が長い水の場合は厳しい監視と制御が必要である。一般に有害金属は水中に他の汚染物質を共存して存在する。多くの物理化学処理（たとえば中和処理）は共存物質（たとえば界面活性剤やキレート剤）が存在するとその処理が効率的にゆかないし、膜処理は環境中に放流する水を作り出す浄化処理の場合、さして除去する必要もない微量有機物質まで多くのエネルギーを使用し除去する。金属は微生物タンパク質構造内の硫黄（S）と結合することにより、タンパク質と強固に結合することが知られている。このタンパク質は微生物やその他の生物や植物内に発現させることが可能であり、微量有害金属除去プロセスの基礎的原理となり得る。本研究は微生物の体内より重

金属と結合するタンパク質を発見し、それらの構造的・機能的性状を明らかにし、さらに、そのタンパク質をコードする遺伝子情報の解明を第1の目的とする。さらに、その得られたヒ素結合タンパク質を泡沫分離プロセスに用いることにより、高効率な有害金属汚染水処理プロセスを開発することを第2の目的に据える。本研究全体の中で目指している自律分散型水処理システムの中では産業活動から排出される排水を環境中に排出する際に適用するプロセスとしての位置づけである。

B. 研究方法（14年度）

このタスクにおいては微生物（細菌）を利用し、金属結合タンパク質の生成を発現させ、そのタンパク質を検出することを目的とする。重金属耐性菌を下水汚泥（1次、2次）、温泉地河川底泥、また、南・東南アジアの金属汚染地域（とくにヒ素）汚染地域の土壌から採取し、細菌を単離後、重金属を含む培地と含まない培地の二通りで培養し、その粗タンパクを抽出する。次にその抽出されたタンパク質を二次元電気泳動装置（等電点泳動と SDS・または

Native-Page) で分離し、ブロットニングした後、ラジオアイソトープ態の重金属を結合させ、重金属と結合するタンパク質を検索する。選択されたタンパク質のヒ素吸着能を再度試験することにより、重金属結合タンパク質を決定する。このタンパク質はプロテオミクス専用タンパク質同定システムによって1次構造が決定される。

C. 研究結果

本年度の研究は期間が短かったことから前述した研究方法の中の微生物タンパク質の抽出と予備的な2次元電気泳動を翔にとどまった。予備的な電気泳動とは重金属(本年度は銅を使用した)存在下と、非存在下で培養した混合細菌叢(活性汚泥由来)からそれぞれ抽出した粗タンパク質を小規模の泳動装置(8センチ角)で分離をし、CBBで染色し、銅の存在によりインデューズされたタンパク質の存在を確認した。タンパク質の抽出方法は様々な方法が提唱されているが、本研究ではnブタノールによる溶媒抽出と超音波による物理的抽出の二つの方法を採用した。nブタノールによる抽出タンパク質は泳動を妨害する物質が多く正常な泳動ができなかったが、超音波抽出タンパク質は泳動が正常に行われ、CBB染色で約2個の銅によってインデューズされたタンパク質を確認した。

D. 考察並びに結論

銅存在下で培養された微生物から通常の微生物とは異なる種類のタンパク質が存在することが確認された。このタンパク質はおそらく微生物が銅存在下で代謝機能を損なわないための防御機構的に係るタンパク

質であると推測される。本年の研究は予備的なタンパク質抽出と泳動に終わったが、現在、さらに大型の電気泳動装置を使用しブロットニングまでも含めた研究を続行中である。今後は多種の重金属に親和性のあるタンパク質を検索し、最終的には有害物質の選択的除去システムへの応用を目指す。

E. 研究発表

本年度はなし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
M. Narita, T. Yamagata, H. Ishii, C.-C. Huang and G. Endo	Simultaneous detection and removal of organomercurial compounds by using the genetic expression system of an organomercury lyase from the transposon <i>TnMER11</i> .	Applied Microbiology and Biotechnology	Vol. 59, No. 1	867-90	2002
T. Yamagata, M. Ishii, M. Narita, C. C. Huang and G. Endo	Bio-affecting mercury detection using mercury resistance gene module fused with bioluminescence reporter genes.	Water Science and Technology	Vol. 46, No. 11-12	253-256	2002
J. H. Choi, S. Dockko, K. Fukushi, K. Yamamoto	A novel application of a submerged nanofiltration membrane bioreactor (NF MBR) for wastewater treatment	Desalination	146	413-420	2002
Rudi Nugroho, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata and Tadashi Hano	Denitrification of industrial wastewater with sulfur and limestone packed column	Water Science and Technology	46 (11-12)	99-104	2002
Hirokazu Takanashi, Miho Mayumi, Mitsue Kato, Makoto Hirata and Tadashi Hano	Removal of mutagen precursor from wastewater by activated sludge and oxidation treatment	Water Science and Technology	46 (11-12)	389-394	2002
中島常憲、福山秀人、光永弘幸、高梨啓和、前田滋、大木章	環境試料中のアンチモンを測定するための分析方法の検討	環境科学会誌	Vol. 15, No. 6	306-406	2002
岩下章、大山謙二、中島常憲、高梨啓和、大木章	鹿児島市の大気汚染調査（第15報）平成13年度調査報告	鹿児島大学工学部研究報告	第44号	113-121	2002
伊藤禎彦、早坂剛幸、岡田朋之、三次元蛍	光分析を用いた水道水中フミン物質の回収性の検討	環境衛生工学研究	Vol. 16/No. 3	113-118	2002
伊藤禎彦	塩素消毒のゆくえ	水道公論	Vol. 39/No. 1	28-30	2002
Hiroaki Ozaki et. al.	The Role of Membrane ζ -Potential in Solute Rejection by Low Pressure Reverse Osmosis Membrane	Water Science and Technology : Water Supply	Vol. 2 (5-6)	321-328	2002
Hiroaki Ozaki Kusumakar Sharma and Wilasinee Saktaywin	Performance of an ultra-low-pressure reverse osmosis membrane (ULPROM) for separating heavy metal : effects of interference parameters	Desalination	No. 144	287-294	2002