

氏名・(本籍)	Nurul Asyifah Mustapha (マレーシア)		
学位の種類	博士(工学)		
学位記番号	生工博甲第275号		
学位授与の日付	平成28年12月27日		
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	「Microbial Community Dynamics to Understand Bacterial Interaction for Bioremediation and Bioenergy Production」 (バイオレメディエーションとバイオエネルギー生産のための細菌間相互作用を理解するための微生物群集動態解析)		
論文審査委員会	委員長	准教授	加藤 珠樹
		教授	白井 義人
		准教授	前田 憲成
		教授	酒井 謙二

## 学位論文内容の要旨

今日の様々な環境問題に対する環境保全と環境負荷低減への取り組みは、益々その重要度が増しており、バイオレメディエーションや廃棄型バイオマスの高度活用などの研究が盛んに進展している。その背景の中、実際の環境中には複合系微生物が存在しており、下水汚泥のメタン発酵プロセスやバイオレメディエーションなどの効率化には、これらの複合系微生物における相互作用を深く理解していくことが重要である。また、バイオレメディエーションの中でも、環境汚染物質の分解活性の高い菌株を投与し、汚染浄化を促進する手法であるバイオレメディエーションにおいて、投与した菌株が期待された効果を発揮することなく死滅するという事例が多く報告されておりその淘汰現象の理解にも、複合系微生物における相互作用を紐解く必要がある。

近年、分子技術の著しい発達の中で、次世代シーケンサー技術が開発され、容易に微生物群集構造が解析でき、主に分類学的位置関係から微生物の機能を推察できるようになった。しかし、プロセスにおける微生物活性と細胞レベルでの機能や活性を明確にしていく研究は、未だ発展段階であり、複合微生物の機能の理解を深めることが強く求められている。本論文では、下水汚泥中に投入された大腸菌が死滅していく現象、抗生物質によって最終的にメタンガスが高度生産される現象、パームオイル産業廃棄物であるリン酸ガム投与によってメタン生成が抑制される現象について、細菌群集構造の変化を明らかにし、それぞれの現象における複合系微生物の相互作用と機能解明を目指した取り組みとなっている。

第一章では、これまでの下水汚泥とバイオレメディエーションの問題背景の他、バイ

オエネルギー生産とパームオイル産業廃棄物リン酸ガムに関する文献調査、並びに基本的な知見に基づいた研究背景、研究方針・計画について論述し、本研究の目的について述べられている。

第二章では、本研究に関わる基本的な実験手法や原理などについて、参考にした文献などを引用して詳細に説明している。

第三章では、細菌間での自然淘汰現象の仕組みを理解するために、下水汚泥中に大腸菌を投与する実験モデルにおいて、その投与された大腸菌が死滅していく現象、およびその際にどのような細菌群集構造の変化があるのかを検討している。また、抗生物質の抗菌活性を利用し、その細菌群集構造を変化させた際に、投与した大腸菌が死滅しなくなる条件での菌群を比較することにより、自然淘汰に関わる菌群の特定が試みられている。さらに、実際にこれら特定した菌群が、大腸菌の死滅に寄与しているかを実験的に証明し、特に *Comamonadaceae* に属する菌が大腸菌の死滅に深く関わっていることを明らかにしている。

第四章では、下水汚泥のメタン発酵における、メタン生成が向上するアジスロマイシン、メタン生成が低下するクロラムフェニコール、メタン生成に影響を及ぼさないカナマイシンという3つの抗生物質の効果が検証されている。アジスロマイシン及びクロラムフェニコールを添加した汚泥において、下水汚泥の加水分解反応及び有機酸生成反応が促進されていることを明らかにしている。クロラムフェニコールにおいては、メタン菌の活性が抑制されていることが、メタン生成の低減の理由であることを明らかにしている。それぞれの抗生物質を添加した汚泥における細菌群集構造解析を行ったところ、アジスロマイシンにおいては *Clostridium* 属の割合が顕著に増加していること、及び *Caldinea* 属の存在比がメタン発生量と相関していることを明らかにしている。

第五章では、メタン生成の向上化をもたらすアジスロマイシン及びその類似体が添加された汚泥による長期間のメタン発酵効果が調べられている。7日目までの早い時期において、ジョサマイシン、キタサマイシン、ロキスロマイシン、テリスロマイシンはメタン促進効果を示すが、発酵15日目以降は抗生物質未添加の汚泥の方が多くメタンを生成していることが明らかにされている。長期培養した抗生物質添加汚泥においては、有機酸が多く蓄積しており、それによる pH の低下がメタン生成の停滞につながったものと考察している。細菌群集構造解析では、ベータプロテオバクテリアが抗生物質未添加の汚泥に多く存在し、*Clostridium* 属の細菌が抗生物質添加汚泥に多く存在していたことが示されている。

第六章では、パームオイル産業廃棄物であるリン酸ガムによる下水汚泥のメタン生成を調べ、5%のリン酸ガム中の有機物及び無機物の両方にメタン抑制効果があること、リン酸ガム添加により、有機酸が顕著に蓄積していることが示されている。リン酸ガムの存在下において、*Lactobacillus* 属及び *Megasphaera* 属の菌群の活性化が明らかにされている。

第七章では、第三章から第六章までの研究成果を簡潔にまとめ、研究の総括と本研究の全体計画に対する今後の研究課題とその改善策が述べられており、今後の展望を述べて閉じられている。

## 学位論文審査の結果の要旨

本論文に関し、論文審査委員及び公聴会出席者より、活性汚泥のメタン発酵において、汚泥を抗生物質で処理した場合、投与する抗生物質により、メタン生成のパターンが異なることの理由、熱処理したフォスフォリン・ガムのメタン発生量に及ぼす影響の有無とその理由、第3章の抗生物質の種類と第4章の種類が異なる理由、活性汚泥に添加した大腸菌を殺してしまう武器（作用）はどんなものか？等の質問がなされたが、いずれについても著者から十分な回答があり、質問者の理解が得られた。

以上により、論文調査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が博士（工学）の学位に十分値するものであると判断した。