

## 六価クロムを無害化する微生物の電気化学的高密度培養

### 背景

環境中には、特殊な機能を有する多種多様な微生物が生息している。このうち、有害金属イオンを無害化することで生育する微生物が知られており、バイオレメディエーションへの応用が注目されている。しかし、これらの環境微生物の多くは、培養手段が確立されていないものが多く、これが応用を検討する際の障害となっている。有害な六価クロムを還元し、無害化することが可能なクロム還元菌もその一つである。当研究所では、環境中の有用微生物を検索する手段として、電気微生物の生育を促進させる培養法の開発に取り組んでおり、この手法を用いることで、クロム還元菌について効果的に高密度培養をおこなえる可能性がある。

### 目的

クロム還元菌の培養条件を解明し、電気化学的手法による高密度培養の可能性を実証する。

### 主な成果

#### 1. 既存の集積法によるクロム還元菌の培養

通常の微生物に対して毒性を示す0.2mMの六価クロムCr(VI)を含む培地中に土壌試料を添加し、嫌気的条件下で6ヶ月間培養した結果、培地中の90%以上のCr(VI)を毒性の低い三価クロムCr(III)に還元、不溶化する微生物群が得られた(図1)。しかし通常の培養法では、クロム還元菌の繁殖と同時に、Cr(VI)が還元、無害化することによってその他の微生物の繁殖が起こるため、その後Cr(VI)還元活性の著しい低下を招いた。この結果から、クロム還元菌の活性を維持するためには、クロム還元菌が選択的に増殖するために必要なCr(VI)濃度を保ちながら培養する必要があることが明らかとなった。

#### 2. 電気によるクロム還元菌の高密度培養

クロム還元菌の作用で減少したCr(VI)を電気化学的に再生することで、クロム還元菌の選択的集積が可能な新規の微生物培養系を構築した(図2)。0.1mMのCr(VI)を含む培地中で、クロム還元菌を含む微生物群を嫌気的に2週間培養したところ、通常の培養では少なくとも3種類の微生物の増殖が見られた。しかし、Cr(VI)が電気化学的に再生される1.0Vの電位を培養液に与えながら培養した場合には、形状のそろった単一種の微生物の増殖が確認できた(図3)。この微生物はCr(VI)を還元する活性を維持しており、目的とするクロム還元菌を集積できたことが証明されたと考える。

以上の結果から、電気化学的手法は、微生物群集の中からクロム還元菌を高密度培養するのに有効な手段であることが明らかとなった。また本手法は、雑菌の侵入の恐れがある環境での選択的培養を可能にするだけでなく、培養手段の確立していない未知の環境微生物の探索への利用も期待できると考える。

### 今後の展開

六価クロム以外の有害金属を還元する微生物に対して本手法を適用し、電気化学的高密度培養の汎用性を確認する。

主担当者 環境科学研究所 バイオテクノロジー領域 主任研究員 松本 伯夫

関連報告書 「電気による微生物の制御(その8)―クロム還元菌の取得ならびに電気化学的集積培養効果―」電力中央研究所報告: V04006(2005年1月)

関連特許 松本 伯夫、他: 微生物の集積培養方法、特願2004-242939(2004年8月)

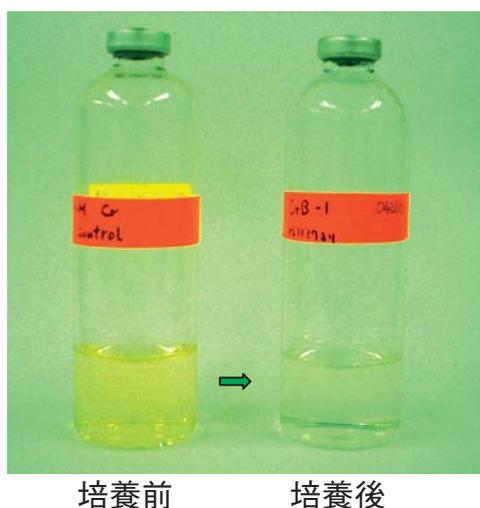


図1 クロム還元菌によるCr(VI)の還元  
有害な六価クロムイオンが溶けた溶液は黄色を呈しているが（培養前）、クロム還元菌の働きにより六価クロムは毒性の低い三価クロムとなって沈降し、溶液は透明になる（培養後）。

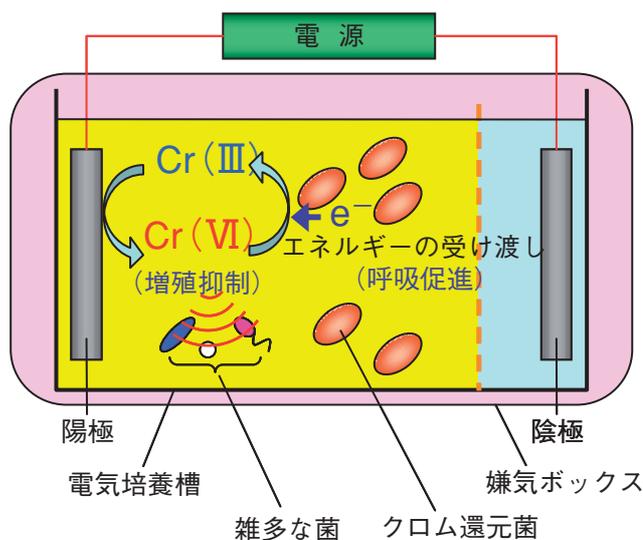


図2 電気化学的手法によるクロム還元菌の高密度培養  
電気化学的に再生される六価クロムは培養液中の雑多な菌に対し毒性を示すため、増殖を阻害する。一方で、クロム還元菌の呼吸を促進する働きを担う。これにより、クロム還元菌の高密度培養が可能となる。

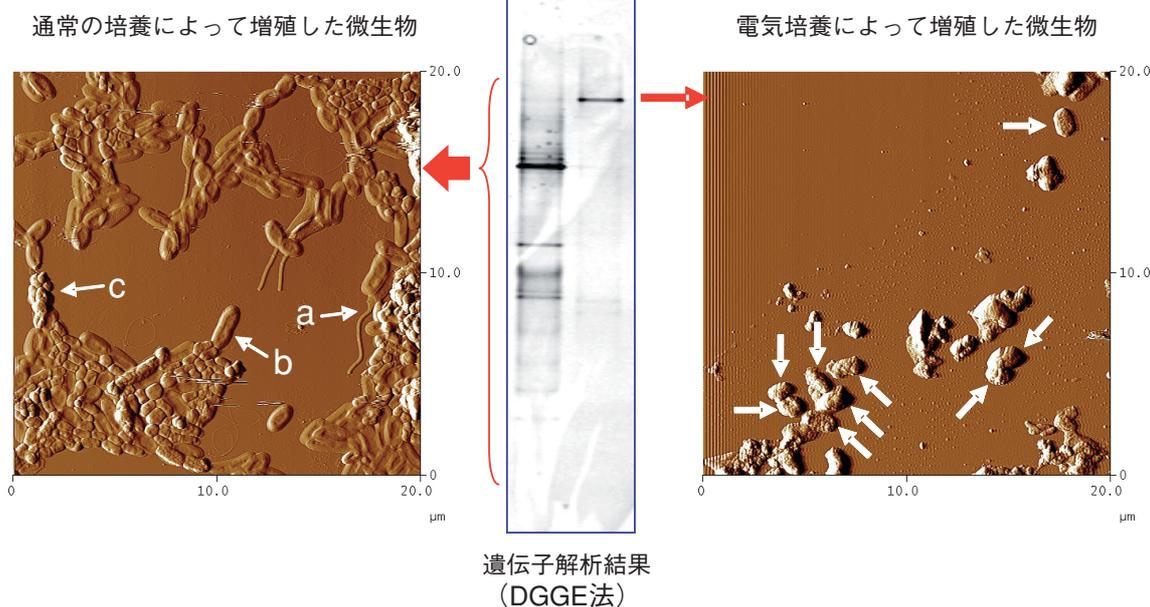


図3 原子間力顕微鏡による電気化学的なクロム還元菌の集積効果の確認

ガラス密閉容器による通常の嫌氣的培養法では、クロム還元菌以外の複数の微生物種が確認できた（左図a～c）。一方、電気培養によって増殖した微生物は、遺伝子的にも視覚的にも単一であった。また、この単一菌がクロム還元活性を有することも確認した。

DGGE法：培養液に含まれる微生物の群集を解析する方法。出現するバンドの数は、培養液に含まれる微生物種の数を表す。