

## 研究課題別 事後評価結果

1. 研究課題名： バイオリン鉱石の生産技術開発

2. 研究代表者： 黒田 章夫（広島大学 大学院先端物質科学研究科 教授）

3. 研究内容および成果：

本研究は、微生物のポリリン酸蓄積能力を、排水からのリン除去や回収に利用することを目的とした。本研究の前身である「さきがけ研究」で創成したポリリン酸蓄積変異株の代謝機構を解明して改良を推し進め、全菌体重量に対するリン含有率をさらに高めるとともに、排水からのバイオリン鉱石の回収研究を行った。以下、主な成果をまとめる。

### 1) ポリリン酸蓄積機構の解明と変異株の創成

フローサイトメトリーを用いたポリリン酸蓄積菌の分離法を応用し、大腸菌ポリリン酸蓄積変異株を分離した。変異した遺伝子を同定した結果、*gltA* 遺伝子、*yjbB* 遺伝子がポリリン酸蓄積に関与する新たな遺伝子であることが判明した。*gltA* の変異は最少培地でアミノ酸飢餓を引き起こしてポリリン酸蓄積を誘発すると考えられた。一方、*yjbB* 遺伝子産物はリン酸を取り込むのではなく、排出を専門に行うエクスポーターである可能性が示された。すなわち、細胞内のリン酸濃度が上昇したときに *yjbB* が機能せずリン酸が排出出来ないため異常に細胞内リン酸濃度が高まり、ポリリン酸が過剰に蓄積すると考えられた。また、ポリリン酸に結合する分子を解析することにより、ポリアミンがポリリン酸を細胞内に安定的に存在させることや、細胞内のポリアミン量を変化させる *speG* 遺伝子変異により、ポリリン酸が蓄積することが分かった。

このような統合的な研究を通して、*phoU*, *pita*, *relA*, *gltA*, *yjbB*, *speG* 遺伝子が関与するポリリン酸代謝制御機構を明らかにした。また、その情報をもとに、ポリリン酸蓄積変異株を創成し、高リン含量のバイオリン鉱石の生産技術を確立した。

### 2) 排水中のリンの濃縮、回収

ジルコニウムとポリビニルアルコールからなるリン捕集剤を利用することで、微生物から純度の高いリンの回収が出来ることが分かった。この方法を利用してパイロットプラントによるリン回収を行った結果、微生物から熱処理によって放出したリン酸の 61%を回収することが出来た。

### 3) 新展開から生まれた研究

無機ポリリン酸に結合するタンパク質を発見した。そのタンパク質はリボソームタンパク質であり、シリカ(ポリケイ酸)に対し、nM オーダーを下回る強固な結合力で結合することが分かった。このシリコン結合タンパク質と目的タンパク質との融合タンパク質を作製することによって、任意のタンパク質を活性を保ったままシリコン基板上に固定化することが可能になった。さらにその発展型として、アスベスト(クリソタイル)繊維と強く結合する大腸菌とレポータータンパク質とを遺伝子操作により融合させ、「アスベスト検出酵素」を作製した。この検出酵素が試料中のアスベストと接触することにより、アスベストに結合し、レポータータンパク質の反応を利用してアスベストを検出す

ることが出来る。本方法はアスベストの簡易検査法として応用出来る可能性を秘めている。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

期間中の外部発表、特許等の実績を示す。

発表論文: (邦文) 3 件 / (英文) 10 件

口頭発表: (国内) 24 件 / (海外) 4 件

特許出願: (国内) 9 件 / (海外) 2 件

その他: TV放映(平成 20 年 2 月 9 日 サイエンスチャンネル)

日経、朝日、環境新聞等 8 件

環境中に無駄に廃棄されているリン資源の有効利用を目指して、ポリリン酸蓄積菌の分子育種に成功した。同時に、実際の排水中におけるポリリン酸蓄積菌からのリンの効率的な回収方法も確立し、実用化を視野に入れた価値あるデータが得られた。さらに、無機デバイスの作製に向けたタンパク質の配列化やアスベスト検出技術等、研究テーマから派生した新規分野にも目を見張る成果が得られた。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

フローサイトメトリーを用いたポリリン酸蓄積変異株の取得方法を確立し、この技術をもとに、次々とポリリン酸蓄積に関与する遺伝子を特定する等、ポリリン酸合成に関する研究において世界をリードしている。これら一連の技術と得られた知見は、微生物の代謝機構のみならず、リン鉱石形成機構の解明等、科学的に重要な発見につながった。また、低濃度のリン酸を、育種された微生物を用いて濃縮し、ジルコニアポリビニル複合体(Zr-PVA)を用いて高効率に回収する方法の確立に成功する等、技術的に高いインパクトを与えた研究であると評価出来る。

これらの業績は、学会等への発信にとどまらず、広くテレビや新聞にとりあげられ、科学技術の有用性を世の中に知らしめることにも貢献した。

##### 4-3. その他特記事項(受賞)

本研究から派生した新たな研究テーマについて、以下の事業に採択された。

- 1) 平成 18 年度「科学技術振興調整費先端融合領域イノベーション創出拠点の形成(広島大学 半導体バイオ融合集積化技術拠点形成)」
- 2) 平成 19 年度「JST 先端計測分析技術・機器開発事業」