

## Cd resistance of bacteria in Rawakalong lake in Indonesia (インドネシアラワカロン湖におけるバクテリアのCd耐性)

北海道大学大学院 環境科学院

環境起学専攻 統合コース

小林 健一

現在地球上では経済開発や人間活動により廃棄物等から起こる土壌、河川、海洋汚染の問題が数多く存在する。これらの汚染物質としては有機溶剤、木材保存剤、農薬、軍事廃棄物などが考えられるが、そのうち重金属は過去わが国で有機水銀汚染が原因の水俣病やカドミウムが原因であるイタイイタイ病など、住民への重篤な健康影響を引き起こしている。

現在わが国では環境基準値を大きく超える重金属汚染はほとんど見られないが、開発途上国などではまだ重金属汚染に関わる環境対策に遅れがある場合も多くみられる。昨年の安田(2008)の研究からも開発途上国の一つであるインドネシアの土壌に基準値を超える Cd が存在していることが明らかにされている。Cd は生物学的半減期が他の重金属と比べ 20~30 年と長期であり人体に与える影響も長期に渡ることが懸念され、効率の良い重金属除去法の開発が待たれている。そこで、本研究では、将来のカドミウムのバイオレメディエーション法の開発を見据えて、カドミウム濃度が比較的高い土壌よりカドミウム耐性菌を探索し、その耐性機構を解明することを目的とした。

インドネシアジャワ島のラワカロン湖およびチリブン川の底質から 500 ppm カドミウムで生育する菌を選別し、その菌種の同定および同定された菌へのカドミウムの取り込み能を調べた。同様の実験を対照に選んだ北大薬草園からサンプリングした土壌においても行なった。さらにカドミウム耐性菌内でのカドミウム結合物質および原核生物における Cd 耐性遺伝子としてよく知られている *cadA* 遺伝子の有無をゲル濾過法および PCR 法などを用いて調べた。

その結果、チリブン川およびラワカロン湖の底質土壌より 500 ppm の Cd で生育する菌をそれぞれ得ることができた。菌の同定試験により、ラワカロン湖の底質土壌より得られたカドミウム耐性菌はグラム陰性の *Alcaligenes sp.* と同定された。この菌へのカドミウム取り込みを調べると 1 時間で培養液に添加したカドミウムの 60% が菌中に取り込まれたが、その後の取り込みがほとんど増加しないこと、および取り込まれたカドミウムの約半分が菌の可溶性画分に存在していることが確かめられた。またゲル濾過の結果より可溶性画分中のカドミウムは分子量 8 万以上の生体高分子に結合していること、および PCR 法の結果より *CadA* 遺伝子のプライマーにより増幅する断片が認められないことが明らかになった。

以上のことから、このカドミウム耐性菌は真核生物におけるメタロチオネインや、原核生物での *cadA* のようなカドミウム耐性分子が存在していない可能性が考えられ、カドミウムを速やかに取り込んだ後にカドミウムの取り込みを制限する機構が機能発現していることも考えられた。今後さらにこの菌の *CadA* 遺伝子以外のカドミウム耐性遺伝子の探索および Cd の取り込み機構を調べることにより、カドミウムのバイオレメディエーションへの応用が期待される。