放射性核種移行挙動に対する微生物影響因子の分子科学的研究
（1） 地圏微生物ー環境ナノ粒子間相互作用

Molecular Science for the role of microorgansims goveming migration of radionuclides

(1) Interaction between microorganisms and environmental nanoparticles in subsurface

*宇都宮 聡[1]，正木 翔太[1]，中野 友里子[1]，市吉 健太[1]，大貫 敏彦[2]，Michael F. Hochella, Jr.[3,4]，
[1]九大院理，[2]東工大，[3]バージニア工科大，[4]PNNL，

微生物ーナノ粒子間相互作用の機構解明のために、酵母菌と不溶性セリアナノ粒子を用いた室内実験を行ったところ、ナノ粒子に対する暴露によって放出物、内部タンパク質（Eno2p）の変異を明らかにした。また、微生物放出物はナノ粒子のコロイド安定性を向上させることが分かった。

キーワード：地圏微生物，環境ナノ粒子

1. 緒言

地下環境中には多種の微生物、ナノコロイドが普遍的に存在し、放射性核種コロイドが微生物と相互作用を理解する必要がある。本研究では(ｉ)ナノ粒子が微生物に与える影響、(ⅱ)微生物がナノ粒子に与える影響について双方向から研究を行い、元素移行に対するナノ粒子－微生物間相互作用の影響を評価することを目的とした。

2. 実験

(ｉ)CeNPs を 100 ppm 添加した培地を用いて培養した *S.cerevisiae* を分離回収し、pH=2, 3, 5, 7 に調整した 1 mM NaCl 水溶液中に入れ浸透した。溶出した細胞外放出物(EPS)は誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)、イオンクロマトグラフィー(IC)、 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、全有機炭素計(TOC)を用いて分析した。CeNPs による *S.cerevisiae* に対する毒性（viability）はメチレンブルー染色法によって定量し、CeNPs による *S.cerevisiae* のタンパク質変異については二次元電気泳動を行った後に Peptide Mass Fingerprinting (PMF)分析によって同定した。

(ⅱ)YPD 培地にて培養した *S.cerevisiae* を分離回収し、pH 3 に調整した 1 mM NaCl 水溶液中に添加した。72 時間後 *S. cerevisiae* を除去して EPS 溶液を得た。pH 6 に調整した EPS 溶液中での CeNPs の凝集過程について動的光散乱(DLS)装置及び紫外可視分光光度計を用いて測定し、ζ電位も測定した。比較として 1 mM NaCl (control)、0.16 mM H_3PO_4 においても同様の測定を行った。EPS を 1 時間吸着させた CeNPs に対して、全反射測定法によるフーリエ変換赤外分光分析(ATR-FTIR)と X 線光電子分光分析(XPS)を用いることで吸着化学種を特定した。

3. 結果と考察

(ｉ)HPLC の結果から CeNPs に暴露させた *S.cerevisiae* は、CeNPs 非存在下と比較して放出された有機物種の相対的量に変化がみられ認められるとともに、リンの放出量の減少が確認された。これらの相違は CeNPs が酵母の生育段階を変化させたことを示唆している。培養中に CeNPs を暴露させた酵母をに対してタンパク質の PMF 分析を行ったところ、解糖系に関わる酵素である Eno2p の過剰発現が見られ、CeNPs が酵母の代謝活動に影響を与えていることが示唆された。

(ⅱ) *S. cerevisiae* 由来 EPS は分子量が 3000 以下のタンパク質や多糖類、リン酸、有機リン化合物を含有し、CeNPs 表面に対する多糖類とリン酸の優先的な吸着が確認された。Control、 Phosphate、EPS 水溶液中における CeNPs の臨界凝集濃度[mol L-1]は 0.01、0.14、0.25 であり、リン酸と多糖類の吸着は凝集を抑制することが分かった。しかし、各溶液中でのζ電位は+23 mV (Control)、-40 mV (Phosphate)、~0 mV (EPS)であり、凝集の抑制機構は多糖類の有無によって異なることが示唆された。リン酸のみの場合、凝集抑制は CeNPs のζ電位減少に伴う粒子間静電斥力の増大に起因する。一方、EPS の系では多糖類の吸着により形成された立体斥力によって凝集が抑制される。このように EPS によるナノ粒子の凝集抑制効果は共存している陰イオンの影響を受けないことが考えられる。

以上のことから微生物ーナノ粒子間相互作用を解析するために、酵母菌と不溶性セリアナノ粒子の混合実験を行い、放出物、内部タンパク質（Eno2p）の変異を明らかにした。また、微生物放出物はナノ粒子の安定性を向上させることが分かった。

*Satoshi Utsunomiya[1], Shota Masaki[1], Yuriko Nakano[1], Kenta Ichiyoshi[1], Toshihiko Ohnuki[2] and Michael F. Hochella, Jr.[3,4]
[1]Kyushu Univ., [2]Tokyo Inst. Tech., [3]Virginia Tech, [4]Pacific Northwest National Lab.