

セシウムイオンを取り込む膜小胞の機能向上とその回収技術の確立

伊藤 政博

東洋大学 生命科学部

研究の目的

福島第一原発事故から 12 年が経過し、現在も増え続ける大量の汚染水から放射性核種を取り除いた「処理水」の海洋放出が話題となっている。しかし、貯蔵されている「処理水」の 70%以上は、「処理途上水」と分類され、放射性ストロンチウム (Sr) などの放射性核種が海洋放出基準値以下まで除去されておらず、再度の放射性核種除去処理を行わなければならないなど問題を抱えている¹⁾。このように現在でも放射性核種 (特に Sr やセシウム (Cs)) のより効果的で安価な除去技術が求められている。微生物を利用した環境浄化技術は、安価で環境負荷を低く抑えられる技術として知られている²⁾。¹³⁷Cs の半減期は 30 年と長く、長期間の環境汚染が問題視されている。また、Cs はカリウム (K) と物理化学的性質が似通っており、人体において K と同じように全身に拡散する³⁾。さらに、細菌においての Cs⁺は細胞内に K⁺の取り込み系を介して取り込まれる。一方で、Cs⁺の排出系は存在せず、細胞内に Cs⁺が蓄積していくため、Cs⁺は細菌に対して毒性を示す⁴⁾。しかし、当研究室においてハエトリグモの磨砕物から 1200 mM CsCl 存在下でも生育可能な高濃度セシウム耐性菌である *Microbacterium* sp. TS-1 株が分離された⁵⁾。TS1 株は H⁺を細胞内へ取り込み、Cs⁺を排出することが可能な Cs⁺/H⁺アンチポーター (CshA) を保有していた。本研究では、この CshA を活用し、Cs を汚染物質から回収するためシステムを構築することを目的とした。

方法

実用化を目指した簡便な膜小胞回収システムの開発は、上記の CshA 酵素を含む反転膜小胞が多量の Cs⁺を環境から回収・濃縮する技術として重要となる。実用化を考えたときに、より効率的な膜小胞回収システムがないと実用化が進まない。また、反転膜の状態での回収には、超遠心分離機が必要となり、実用化には不向きである。そこで、回収条件の最適化のための、CshA 酵素を発現させた大腸菌反転膜小胞をゲル化剤であるアルギン酸カルシウムを用いて直径 2 ミリメートル程度の球状にしたゲル内に膜小胞を閉じ込めて、球状ゲル化合物として Cs⁺回収処理方法について検討を行った。CshA 酵素を発現させた膜小胞を埋包したアルギン酸カルシウムの球状ゲル化合物の作成に関する条件検討は、試行錯誤の結果、混合比率の最適条件を決定した。実験では、TS-1 株が保有する CshA を大腸菌 Mach1 株に形質転換する過程で得られた高濃度 Cs 耐性大腸菌 ZX1 株を用いた。また、ネガティブコントロールとして主要な Na⁺/H⁺アンチポーターを欠失させた大腸菌 KNabc 株を使用した。まず、ZX-1 株をフレンチプレス機 (Glen mills 社) による高圧細胞破碎によって反転膜小胞を調製した。作製した反転膜小胞は、二重管ノズルを用いて 1%アルギン酸ナトリウム

水溶液で包み込む形で 100 mM 塩化カルシウム水溶液に滴下することにより球状ゲルにして用いた (図 1)。球状ゲルは 15 ml 遠沈管に各 20 個ずつ分取し、30 mM CsCl 及び 2.5 mM コハク酸を含む 30 mM Tris-HCl Buffer (pH8.5) 混合液に 3ml ずつ分注した。混合液を添加後、1 時間振盪し、混合液上清を回収した。炎光光度計 (BWB Technologies 社) により混合液上清の Cs⁺濃度を測定した。

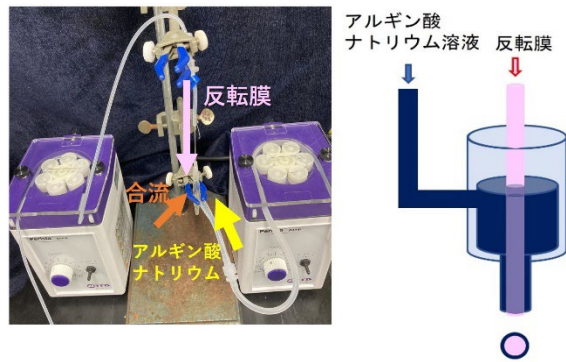


図1. 二重管ノズルを用いた反転膜包埋アルギン酸ゲル作製装置とその概略図

結果

反転膜小胞濃度がそれぞれ 10 mg/ml、20 mg/ml、40 mg/ml の KNabc 株及び ZX1 株の反転膜小胞と反転膜小胞無添加のアルギン酸ゲルを 30 mM CsCl、2.5 mM コハク酸を含む 30 mM Tris-HCl Buffer (pH8.5) に 1 時間振盪しながら曝した。その結果、KNabc 株、ZX1 株の双方で Cs⁺濃度の減少が確認された (図 2)。特に ZX1 株の反転膜小胞は KNabc 株の反転膜小胞よりも多くの Cs⁺の回収が確認できた。なお、反転膜小胞無添加のゲルのみでの Cs⁺濃度は、ゲル 20 個を加えたときの体積の増加に伴う Cs⁺濃度の減少量と一致しており、ゲルに直接 Cs が吸着しているわけではないと考えられた。

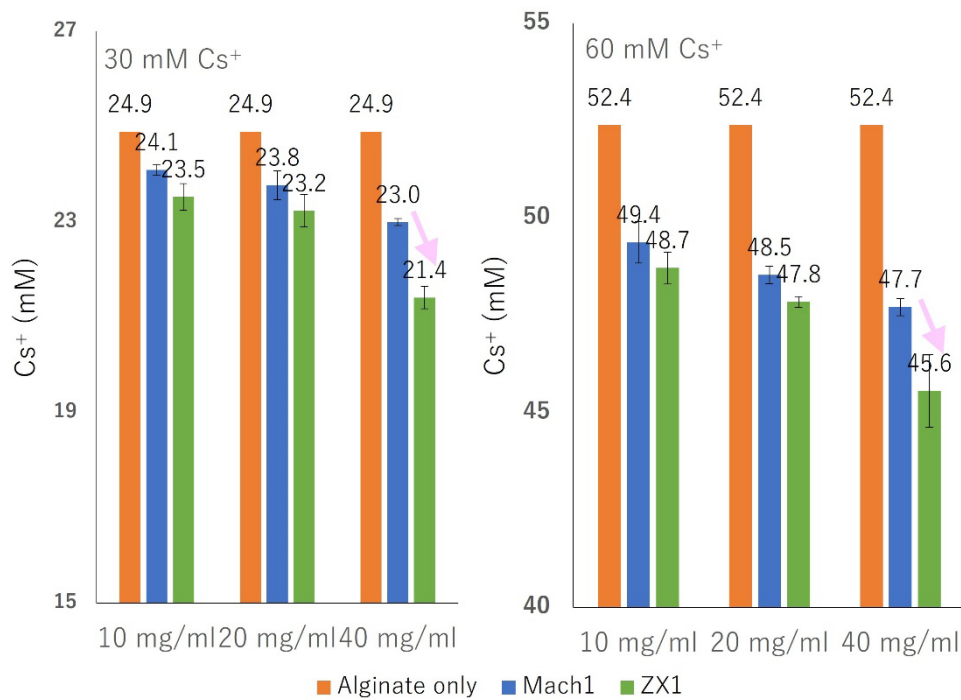


図2. 反転膜小胞包埋アルギン酸ゲルによるCs⁺回収後上清のCs⁺濃度

球状ゲルを20個加えた分、溶液の体積が増加するため、アルギン酸ゲルのみで測定したCs⁺濃度の値も元の溶液のCs⁺濃度より低くなる。

結論

以前に CshA を発現させた反転膜では、Cs⁺の回収が行えることを確認している。しかし、反転膜小胞をアルギン酸に混合した状態で作製した球状ゲルでは CshA による Cs⁺の選択的な回収が見られなかった。そこで今回は、反転膜小胞混合アルギン酸ゲルではなく CshA を発現した反転膜小胞をアルギン酸ゲル内に包埋するために二重管ノズル (図 1) を用いた反転膜小胞包埋アルギン酸球状ゲルを用いて Cs⁺回収を試みた。反転膜小胞包埋アルギン酸球状ゲルでは包埋する反転膜小胞の濃度が増加するにつれて Cs⁺回収率が増加した。このことより、超遠心機による反転膜小胞の回収を伴わない、直径 2 mm 程度の球状ゲルの状態で、Cs⁺を回収できることを示すことが出来た。今後、アルギン酸ゲルに包埋する反転膜量を増やすことが出来れば、更なる Cs⁺の回収が可能であると考えられる。現在、さらなる Cs⁺回収率の向上のために諸条件を検討中である。

文献

1) 東京電力処理水ポータルサイト

<https://www.tepco.co.jp/decommission/progress/watertreatment/alps01/>

2) Lopez-Fernandez, M., Jroundi, F., Ruiz-Fresneda, M., Merroun, M. (2021) Microbial interaction with and tolerance of radionuclides: underlying mechanisms and biotechnological applications. *Microbial Biotechnol.* **14**: 810-828.

3) Melnikov P., Zannoni L.Z. (2009) Clinical effects of cesium intake. *Biol Trace Elem Res.* **135**:1-9.

4) Avery, S.V. (1995) Caesium accumulation by microorganisms: uptake mechanisms, cation competition, compartmentalization, and toxicity. *J. Ind. Microbiol.* **14**:76-84.

5) Koretsune, T. *et al.*, (2022) Novel cesium resistance mechanism of alkaliphilic bacterium isolated from jumping spider ground extract. *Front Microbiol.* **13**: Article number 841821.