

### 3S-Dp03 80年前の亡霊との戦い：微生物による金属腐食研究の最前線

○若井 暁<sup>1</sup>, 三本木 至宏<sup>2</sup><sup>1</sup>神戸大・自科・研究環, <sup>2</sup>広島大院・生物圏  
wakaits@pegasus.kobe-u.ac.jp

微生物が金属腐食に関与する現象は、古くから知られている。1934年に硫酸塩還元細菌 (SRB) が微生物腐食の原因菌であるという仮説が発表され、そのメカニズムとしてカソード復極説というものも提唱された。現在に至っても、金属腐食の現場で SRB が検出されると腐食の原因菌として扱われている。本発表では、このカソード復極説に登場する SRB を 80 年前の亡霊と位置づける。なぜ、亡霊なのか。それは、カソード復極を起こす SRB が実体として証明されていないからである。現代の微生物腐食研究では、真に腐食を起こす微生物を見つけ、そのメカニズムを明らかにすることが課題となっている。

#### カソード復極説？

そもそも、カソード復極説とは何か。金属鉄の腐食は、金属鉄が鉄イオンへと溶解するアノード反応と、その時生じた余剰の電子が何かに渡されるカソード反応から成立する。嫌気条件下では、カソードで反応する強い酸化剤がないため、余剰電子は水中の水素イオンに渡されて金属表面に水素を発生させる。金属表面からの水素の離脱が律速となって腐食が緩やかとなるはずが、SRB がこの水素を消費することで腐食が加速的に進むという。これが、カソード復極説である。しかしながら、実証実験は無く、SRB が水素を消費するヒドロゲナーゼを持っているという情報から立てられた仮説に過ぎない。にもかかわらず、この実体のない仮説は、今でも広く受け入れられてしまっている。

#### 新規鉄腐食性メタン生成菌

最近、微生物腐食研究は、実際に腐食を起こす微生物が見つかり、大きな進展を見せている。日本国内の複数の石油タンクから、鉄腐食性メタン生成菌が分離された。本菌は、金属鉄を溶解させながらメタンを生成する。金属鉄から鉄イオンが溶出する際の電子が、メタン生成のための炭酸ガスの還元利用されている。この鉄腐食性メタン生成菌の全ゲノム解析から、その腐食メカニズムを推定し、特異的な検出技術や腐食抑制技術の開発も進んでいる。鉄腐食性メタン生成菌は単独でも強い腐食を示し、SRB と共存することでそれがさらに強化されることが我々の研究から明らかになっている。この時の SRB は単独では金属腐食を起こさないものである。鉄腐食性メタン生成菌と SRB の協調的なメカニズムとして、前者が金属鉄を腐食する際に生じる電子を水素ガスとして蓄積し、それを SRB が利用するという共生関係が考えられる。環境中における微生物間相互作用として興味深い。

#### ヨウ素酸化細菌による腐食

また、新規腐食性菌としてヨウ素酸化細菌が挙げられている。日本は地下資源に乏しい国であるが、関東の地下に存在するガス含有古代海中には高濃度のヨウ素が溶け込んでおり、そこから回収されるヨウ素の生産量は世界第二位である。このヨウ素を回収する施設では、近年パイプラインの激しい腐食が問題となっており、ここから分離したヨウ素酸化細菌が金属腐食を誘導することが明らかになっている。

#### 将来展望

微生物腐食の現象は、純粋な自然環境というよりは産業環境中で起こるため、関連企業にとって負の側面が強く、研究成果が世に出にくい。しかしながら、近年、明らかになってきている様々な新規腐食性菌の機能は、使い方次第で人類の活動に正の側面をもたらすことが可能と考えている。微生物腐食の研究は、80 年前の亡霊との戦いを終息し、新たな技術開発の研究へと進展している。

#### A fight against a ghost 80 years ago: the forefront of study on microbiologically influenced corrosion

○Satoshi Wakai<sup>1</sup>, Yoshihiro Sambongi<sup>2</sup><sup>1</sup>Org. Adv. Sci. Technol. Kobe Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Biosphere Sci., Hiroshima Univ.)

**Key words** corrosion, methanogen, hydrogen, iodide oxidizing bacteria

### 3S-Dp04 微生物の硫黄代謝酵素研究の新展開

○金尾 忠芳, 上村 一雄

(岡山大院・環境生命)

tkanao@cc.okayama-u.ac.jp

硫黄 (S) は、最も還元されたサルファイド (S<sup>2-</sup>) から最も酸化された硫酸 (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) まで様々な形態をとり、自然界に豊富に存在する。また、炭素、水素、酸素、窒素、リンに次いで生物に必須の元素であり、主にシステインやメチオニンといった含硫アミノ酸の成分としてタンパク質を構成し、生体内の電子伝達や酸化還元反応にも重要な役割を担っている。また主に微生物においては、嫌気呼吸の電子受容体、および好気条件下では電子供与体として異質的にも利用される。特に好気的条件下における硫黄化合物は、硫黄酸化微生物によって最終的に硫酸に酸化されるため、このような微生物は好酸性であるものが少なくない。

好酸性鉄硫黄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* は、二価鉄のほか還元型無機硫黄化合物を酸化し、得られるエネルギーと還元力で二酸化炭素を同化する化学合成独立栄養細菌である。多くの硫黄酸化細菌が Sox 系と呼ばれる硫黄酸化経路によってチオ硫酸を代謝するのに対し、*A. ferrooxidans* には全ゲノム解析から Sox 系に関わる遺伝子の orthologue は存在せず、S4-intermediate 経路 (S4I 経路) により代謝していることが提案されている。この S4I 経路の鍵となる中間代謝産物はチオ硫酸 (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) およびテトラチオン酸 (S<sub>4</sub>O<sub>6</sub><sup>2-</sup>) である。そして、これらを代謝する鍵酵素がチオ硫酸デヒドロゲナーゼ (Tsd) とテトラチオン酸ハイドロラーゼ (4THase) である。我々は *A. ferrooxidans* をテトラチオン酸で培養し、その無細胞抽出液から Tsd と 4THase を精製し、これらをコードする遺伝子 (*Af-tds*, *Af-tth*) を同定した。この *Af-tds* に相同性のある遺伝子は Sox 系を持たない硫黄酸化細菌にも検出された。一方、*Af-tth* は 499 アミノ酸からなるタンパク質をコードし、その一次配列はデータベース上では機能未知の外膜タンパク質として登録されており、新規な一次構造を持つことが示唆された。*Af-Tth* は大腸菌内で封入体を形成したが、この封入体をグアニジン塩酸塩で可溶化後、refolding によって活性型の *Af-Tth* を獲得することに成功した。興味深いことに、この refolding は酸性条件下で行うことが酵素の正しい folding のために必須であることが分かった。このことは好酸性菌由来の本酵素が細胞質から酸性のペリプラズム空間に分泌された後に成熟化し、機能することを反映していた。

*Af-Tth* はテトラチオン酸を基質として加水分解し、元素硫黄、チオ硫酸および硫酸を生成する反応を触媒すると推定しているが、その反応機構は明らかにされていない。現在、4THase をコードする遺伝子は、*A. ferrooxidans* のほか *A. caldus*, *A. thiooxidans* および好酸性好熱性アーキアの *Acidianus ambivalens* において報告されている。これらの遺伝子から推定される一次配列を比較したところ、*Acidithiobacillus* 属細菌の 3 種の 4THase にはシステイン残基が 1 残基しか無く、4 種類全ての 4THase の一次構造においてアライメント解析を行った結果、このシステイン残基の保存性は認められなかった。このことから 4THase は活性中心にシステインを含まない可能性が示唆された。Sox 系の無機硫黄化合物代謝関連酵素においては、システイン残基が活性に重要な役割を果たしているが、4THase はこれとは全く異なる反応機構を有する可能性が期待される。現在、*Af-Tth* の X-線結晶構造解析と唯一のシステイン残基をアラニンに置換した変異酵素の作製を行っており、本酵素の立体構造と反応機構の解明に取り組んでいる。

#### The latest aspects of the enzymes concerning microbial sulfur metabolism

○Tadayoshi Kanao, Kazuo Kamimura

(Grad. Sch. Environ. Life Sci., Okayama Univ.)

**Key words** sulfur metabolism, sulfur-oxidizing bacteria, *Acidithiobacillus thiooxidans*