◇◇◇ コ ラ ム ◇◇◇

日本最大の湖である琵琶湖の深層部（水深約90 m）では、2002年以降ほぼ毎年、フィラメント状のマンガン酸化物粒子が発生している⁽²⁸⁾。発生量は年によって異なるが、多い年は深層水1mL当たり 10^4 個レベルに達し、採取した水が赤褐色を示すほどである。

ところで、このような形態をもつマンガン酸化物粒子は、世界中の湖沼や海域の深層部で出現しているが、どのような微生物が作り出しているのか依然として不明である。フィラメント状粒子の内部を電子顕微鏡で観察すると、微生物の細胞が存在していた痕跡が残されていることがある。しかし、生きた細胞が観察されることはなく（恐らく死滅したか、粒子の外に移動）、微生物を直接分離することは難しい。1980年代までは、細胞から複数のフィラメントを伸長させるマンガン酸化細菌がかかわっているとされ、そのような細胞形態をもつ細菌の分類群として *Metallogenium*（メタロゲニウム）属が提唱されていた。しかし、かつて報告された細菌は世界中のどこの研究室にも残っておらず、現在では *Metallogenium* 属細菌が実在するかは疑問視されている。

この“*Metallogenium* のミステリー”の解明には多くの研究者が挑戦しているが、比較的最近、琵琶湖環境科学研究センターの古田らが培養実験を注意深く繰り返した結果、*Bosea* 属細菌（BIWAKO-01と命名）がフィラメント状のマンガン酸化物粒子を生成することを明らかにした⁽²⁹⁾。BIWAKO-01は通常はフィラメント構造を作らないが、培養液中の酸素濃度を低くし、なおかつ寒天のようなゲル状の多糖を加えると粒子を生成し始めることがわかった。フィラメント部分は酸性多糖で構成され、その表面をナノ・スケールのマンガン酸化物微結晶が覆っていることも

フィラメント状マンガン酸化物粒子—“*Metallogenium* のミステリー”

A・B、琵琶湖深層部の湖水中で観察されたマンガン酸化物粒子。

C、マンガン酸化細菌BIWAKO-01の培養で生成したマンガン酸化物粒子⁽²⁹⁾。

粒子は表面にマンガン酸化物が沈着しているため、茶褐色を帯びる。写真は古田世子博士（琵琶湖環境科学研究センター）から提供を受けた。

示されている。BIWAKO-01のような性質をもつ細菌が実際に、深層部で粒子生成にかかわっているか否かは現地調査で明らかにする必要があるが、*Metallogenium* ミステリーの解明につながる大きな手がかりになるであろう。

現在、世界中の多くの湖沼で深層部の酸素濃度の低下（貧酸素化）が問題になっている。日本では2016年に水域の底層溶存酸素量の環境基準値が定められた。湖底の酸素濃度が低下すると湖底から Mn^{2+} が溶け出し、その後、直上の有酸素層で微生物の働きによって再び酸化されてフィラメント状粒子が生成する。このことから、フィラメント状粒子の生成は湖底環境の健全性のバロメーターといえるかもしれない。琵琶湖深層部では、粒子が初めて観測された2002年以降、酸素濃度の低下など環境の状態が質的に変化している可能性がある。マンガン酸化菌の研究を通して、深層部環境の質的变化が見えてくると考えている。

マンガン酸化物はさまざまな元素を高い濃度で濃縮している。近年では、日本近海で生成するマンガノジュールやマンガクラストがレアメタルやレアアースの重要な鉱物資源として期待されている⁽²⁾。筆者らが以前に調査した茶畑を集水域とする河川では活発なマンガン酸化が起これ、河床の礫の表面にマンガン酸化物が析出していた⁽³⁾。礫表面の生物膜にはマンガン酸化細菌および真菌が数多く存在し、沈積したマンガン酸化物には亜鉛、ニッケル、コバルトなど多くの元素が取り込まれて濃縮されていた。すなわち、マンガン酸化を担う微生物はマンガン動態に直接関与するだけでなく、マンガン酸化物の形成を通して間接的に種々の元素の動態にも影響を与えていることになる。

マンガン酸化を担う微生物には多様な細菌、真菌およ

び微細藻類が含まれ、これらは好気的な環境であれば普遍的に分布している。細菌では、*Leptothrix discophora* (*Betaproteobacteria* 綱)、*Pedomicrobium manganicum* (*Alphaproteobacteria* 綱)、*Pseudomonas putida* (*Gammaproteobacteria* 綱)、海洋性 *Bacillus* spp. (*Firmicutes* 門) 等がマンガン酸化細菌のモデルとして扱われ、詳細な検討が行われてきた^(1, 4)。マンガン酸化を担う酵素触媒として、酸素分子、過酸化水素をそれぞれ電子受容体とするマルチ銅オキシダーゼ、ペルオキシダーゼが同定されている⁽⁵⁾（図1）。また、酸化剤であるスーパーオキシドアニオン (O_2^-) を生成して Mn^{2+} を酸化する機構も見つかっている（後述）。

真菌では、担子菌類、子囊菌類ともにマンガン酸化能をもつ⁽⁶⁾。担子菌（いわゆる、きのこの仲間）では、以前か

図1 ■微生物によるマンガン酸化物の生成と環境中での機能

好気的な環境中では、マンガンイオンは微生物による触媒作用によって酸化され、マンガン酸化物として沈積する。微生物細胞の表層で酸化物が生成した場合、細胞はマンガン酸化物で覆われるようになる。図はマンガン酸化物で覆われた細菌の細胞を薄切し、透過型電子顕微鏡で観察した結果を示している。細菌および真菌では、マルチ銅オキシダーゼ（電子受容体： O_2 ）とペルオキシダーゼ（電子受容体： H_2O_2 ）がマンガン酸化酵素として働く。またスーパーオキシドアニオン（ O_2^- ）によるマンガンイオンの酸化も報告されている。生成したマンガン酸化物は、自然環境中で金属イオンの吸着剤、無機・有機化合物の酸化剤として働く。

ら木質成分である高分子リグニンの分解酵素—ラッカーゼおよびマンガンペルオキシダーゼによるマンガン酸化が知られている。ラッカーゼはマルチ銅オキシダーゼに属する酵素である。両酵素ともに、リガンド存在下で $Mn^{2+} \rightarrow Mn^{3+}$ の酸化反応を触媒し、生成物 Mn^{3+} はキレート錯体として存在する。一方、子囊菌ではマンガン酸化によるマンガン酸化物の生成が数多く報告されてきた⁽⁶⁾。これまでに、河川や土壌、鉱山廃水処理施設などさまざまな環境からマンガン酸化活性を有する子囊菌が分離されている。以前に調査した茶園を集水域とする河川の生物膜では、Pleosporales 目、Hypocreales 目、Xylariales 目に属するものが分離されたが、これらの分類群に属する真菌はほかでも高い頻度で分離されている^(7, 8)。子囊菌によるマンガン酸化にはマルチ銅オキシダーゼが関与するほか、スーパーオキシドによる酸化も報告されており⁽⁹⁾、細菌、真菌におけるマンガン酸化機構には共通性が見られる。

細菌と真菌では、生成するマンガン酸化物の特性もよく一致している。自然環境中で微生物が形成するマンガン酸化物は低結晶性であるが、粉末X線結晶回折（XRD）や高輝度放射光を利用したX線吸収スペクトル（XANESおよびEXAFS）等による構造解析により、多くは、 $Mn^{IV}O_6$ が平面状に配置したナノシートが積層したバーネス鉱（ $(Na, Ca)Mn_7O_{14} \cdot 2.8 H_2O$; δ - MnO_2 ）様で

図2 ■微生物が生成するマンガン酸化物による金属陽イオンの吸着

微生物が生成するマンガン酸化物は、 $Mn^{IV}O_6$ 八面体ユニットが配列したシート構造をもつが、 Mn^{IV} 結晶欠陥が高密度で存在する。このため、 Mn^{IV} 結晶欠陥の負電荷（-4価）を打ち消すように、金属陽イオン（a～d）が吸着する。図中、金属陽イオンaおよびbは結晶欠陥の外側に吸着している。金属陽イオンの吸着には、結晶端面への結合（c）や取込み（同型置換、d）も大きく寄与する。

あることが明らかにされている⁽¹⁾（図2）。シート構造中の $Mn(IV)$ 結晶欠陥が高密度で存在することが大きな特徴であり、たとえば、マンガン酸化細菌 *P. putida* MnB1 で結晶欠陥密度は6～17%⁽¹⁰⁾、*L. discophora* SP-6 で12%⁽¹¹⁾と見積もられている。真菌では、*Acremonium strictum* KR21-2（図3）をはじめとする数種の子囊菌で層状マンガン酸化物のナノ構造が解析され、結晶子のサイズは～10nm（マンガン35原子程度）、シートの積層は2～3層であり、欠陥密度は22～30%と見積もられている⁽¹²⁾。シート構造中の $Mn(IV)$ 結晶欠陥はマイナス4価の電荷をもたらすため、微生物のマンガン酸化物は高い負電荷密度を有することになる。ただし、微生物の酸化物で結晶欠陥が多くなる原因は不明である。欠陥密度17%のシート構造では約850meq/100gに相当する負電荷密度に達し⁽¹³⁾、イオン交換容量の大きな粘土鉱物として知られるモンモリロナイト（約100meq/100g）の8倍以上に相当する。この負電荷を解消するように金属陽イオンが吸着するほか、結晶サイズが小さいため、結晶端面への吸着の寄与も大きいことが報告されている⁽¹⁴⁾。金属陽イオンの吸着量を固相マンガンに対するモル比で表すと、 Pb^{2+} で最大0.55（*L. discophora*）⁽¹⁴⁾、 Cd^{2+} で0.69（*Bacillus* sp.）⁽¹⁵⁾、 Co^{2+} 、 Zn^{2+} および Ni^{2+} で各々0.3、0.23および0.13（*A. strictum*）⁽¹⁶⁾、 $U^{VI}O_2^{2+}$ で0.32（*Bacillus* sp.）⁽¹⁷⁾に達し、微生物のマンガン酸化物が金属イオンに対して高い収着収容力をもつことが明らかになっている。一方で、マンガン酸化物に陰イオンを単独で吸着させた場合、直接的な吸着能力は高くない。しかしながら、ヒ酸イオン（ $As^{VO}_4^{3-}$ ）等の陰イオンは金属陽イオンと共吸着し、マンガン酸化物に高い効率で取り込まれることが示されている^(18, 19)。河川床で生成したマンガン酸化物には主として、オキソ陰イオンとして存在する

モリブデン、タンゲステン、アンチモンが高い濃縮率で取り込まれていた⁽³⁾。自然環境中において、金属陽イオンを強く吸着したマンガン酸化物は、共吸着を通してオキソ陰イオンの動態にも影響を及ぼしていると考えられる。

マンガン酸化の生物学的な意義—なぜ、マンガンを酸化するのか？

マンガンを酸化する微生物は生物圏のマンガン循環を駆動するキープレイヤーであり、これまでに多様なマンガン酸化細菌および真菌が分離されてきた。しかしながら、最も根本的な問いである「なぜ微生物はマンガンを酸化するのか」に対する明確な答えは得られていない。第一鉄イオン (Fe^{2+}) や単体硫黄をエネルギー源とする独立栄養細菌（鉄細菌、硫黄細菌）はよく知られている。マンガンに関しても、細胞膜電子伝達系の酸化還元電位から、 $\text{Mn(III)} \rightarrow \text{Mn(IV)}$ の酸化過程であれば、 O_2 を電子受容体とする呼吸系で熱力学的にエネルギーを獲得できるとの予測がなされている⁽²⁰⁾。しかしながら、マンガンエネルギー源として独立栄養 (autotrophy) や混合栄養 (mixotrophy) で生育する微生物が実在するかは不明である^{*1}。

既知のマンガン酸化細菌はすべて従属栄養であり、生育のために何らかの有機性基質を要求する。マンガン酸化物によって腐植物質が酸化分解を受けると酢酸などの低分子化合物が生成することから、マンガン酸化が基質を獲得するのに役立つとの仮説や、無酸素条件下で最終電子受容体として働くため、電子受容体をプールするためにマンガン酸化を行っているとの仮説も提唱されているが、実態は不明である^(4, 20)。マンガン酸化が進行すると細胞全体がマンガン酸化物で覆われるようになるため、この覆いが有害な紫外線や原生動物による捕食から細胞を保護するとの考えもある。細胞呼吸の過程で生成する活性酸素種の細胞内消去系として Mn^{2+} が機能していることが知られていたが、近年、スーパーオキシドによる Mn^{2+} 酸化機構が細菌⁽²¹⁾、真菌⁽⁹⁾、微細藻類⁽²²⁾ で相次いで見つかったため、活性酸素種の消去が生物学的意義の一つとして注目されるであろう。ただし酵素（マルチ銅オキシダーゼおよびペルオキシダーゼ）によるマンガン酸化も主要な機構であり、すべてのマンガン酸化菌で活性酸素種消去系として機能しているかは今後明らかにする必要がある。

* 本論文脱稿後に、炭酸マンガンをエネルギー源とする独立栄養細菌の報告がなされた。H. Yu & J. R. Leadbetter: *Nature*, **583**, 453 (2020)。

環境中のマンガン酸化物形成に寄与する微生物は特定できるか？

湖沼水柱⁽²³⁾、内湾底質⁽²⁴⁾、坑废水处理システム⁽²⁵⁾などで形成されたマンガン酸化物の微生物群集構造を解析することにより、マンガン酸化に関与する微生物種を特定しようとする試みがなされてきた。しかしながら、16S rRNA 遺伝子配列に基づいた解析によって細菌群集構造を明らかにしても、そのなかでマンガン酸化を担う細菌を特定することは難しい。たとえば、既知のマンガン酸化細菌である *Pseudomonas putida* に近縁の細菌が検出されたとしても、すべての *P. putida* がマンガン酸化能力を有するわけではないため、検出された *P. putida* が試料中でマンガン酸化を担っていると結論付けることはできない。また、マンガン酸化細菌自体が多様であることを考えると、未知のマンガン酸化細菌（マンガン酸化活性をもつことが知られていない細菌）も数多く存在すると予測され、上記の解析だけでマンガン酸化能力をもつ細菌を特定することはできない。このため研究のアプローチとしては、群集構造の解析と同時に、マンガン酸化細菌を分離・培養することが必要である。しかしながら、通常、マンガン酸化細菌が分離できても細菌群集内では非常にマイナーな存在であるため、その寄与を見積もることは難しい。北米のコロンビア川河口域で水中のマンガン酸化物粒子の生成を解析した事例⁽²⁶⁾では、マンガン酸化細菌 *Aurantimonas* sp. の全細菌に対する存在割合は16S rRNA 遺伝子コピー数ベースで0.05%以下に過ぎなかったが、*Aurantimonas* sp. のマンガン酸化酵素（ペルオキシダーゼ）遺伝子のホモログは、*Aurantimonas* sp. の100倍程度存在していたと見積もられ、未知のマンガン酸化細菌の寄与が大きいと述べている。

すなわち、多くの研究において、微生物群集内でマンガン酸化を担う主要な微生物が分離培養できていない可能性がある。一般的に、環境中に生息する微生物の大部分は培養が困難とされており、多くのマンガン酸化菌が未分離であることは否定できない。加えて、最近“培養可能な”マンガン酸化細菌について興味深い研究結果が報告されている。*Arthrobacter* sp. QXT-31を単独で培養してもマンガン酸化活性を示さないが、ほかの細菌と共培養するとそのストレスによりマンガン酸化酵素（マルチ銅オキシダーゼ、BoxA）の遺伝子発現が起こり、マンガン酸化が進行することが明らかにされた⁽²⁷⁾。この研究はほかの細菌が存在することによる生理学的応答としてマンガン酸化が機能することを示唆している。このような細菌は単離する際にマンガン酸化細菌とみなさ

■ *Acronium strictum* KR21-2

マルチ銅オキシダーゼ (Mco1)

■ ホモロジーモデル

■ マンガン酸化反応

(反応液)
0.6 mM Mn^{2+}
+
0.2 μM Mco1(反応液)
0.6 mM Mn^{2+}
0.6 mM Zn^{2+}
+
0.2 μM Mco1

(SEM-EDX解析) 緑: Mn, 青: Zn, 赤: O

図3 ■ 真菌 *Acronium strictum* KR21-2 およびその酵素によるマンガン酸化物の生成^(33, 34)

マンガン酸化物を生成する子囊菌では, *A. strictum* KR21-2 で初めてマンガン酸化酵素 (Mco1) が精製, クローニングされた. 精製酵素を用いたマンガン酸化反応では, 直径約 $3 \mu m$ のほぼ完全な球状のマンガン酸化物粒子が形成される. また Zn^{2+} 混在下で反応させると Zn^{2+} は高濃度で酸化物粒子に取り込まれる (Zn の Mn に対するモル比 = 0.36). 酵素反応によって, どのようにミクロンサイズの粒子が成長するのかは不明である. また図中では酵素 Mco1 のホモロジーモデルを示している. アミノ酸配列で高い相同性が見いだされた真菌 *Albifimbria verrucaria* 由来ビリルビンオキシダーゼ (AvBOX) の結晶構造 (PDB: 2XLL) を用いて作製した. A, Mco1 モデルと AvBOX の結晶構造を重ね合わせ, Mco1 モデルの全体構造と AvBOX の活性中心にある4つの銅原子をそれぞれ虹色のリボンモデルと黄土色の球モデルで示す. B, Mco1 モデルの銅結合部位 (T1) の拡大図である. 銅原子と配位しているアミノ酸残基は, 残基番号と共に球棒モデルで示す. C, Mco1 モデルの銅結合部位 (T2 と T3) の拡大図である. ホモロジーモデルは, 鈴木龍一郎博士 (秋田県立大学) から提供を受けた.

れないため, 群集内で存在量が多くても分離培養の過程でふり落とされる可能性が高いであろう.

湖沼深層部でのマンガン酸化では, フィラメント状のマンガン酸化物粒子が形成されることがある (コラム参照)⁽²⁸⁾. どのような微生物が関与してフィラメント状粒子が生成するのか謎であったが, 最近, 琵琶湖の湖水から分離されたマンガン酸化細菌が特定の環境条件におかれて初めて, フィラメント状粒子を生成することが明らかにされた⁽²⁹⁾.

これらの研究事例は, マンガン酸化細菌を分離培養するときその生態を理解することが非常に重要であることを示している. 従来とは異なる環境条件を設定して分離培養することにより, 環境中でマンガン酸化を担う微生物の新しい姿が明らかになるものと期待される.

マンガン酸化物はどのように形成されるか?

細菌および真菌による Mn^{2+} イオンの酸化機構として, 酵素 (マルチ銅オキシダーゼ, またはペルオキシダー

ゼ) の触媒作用およびスーパーオキシドによる酸化反応が挙げられる. 海洋性 *Bacillus* 属細菌において, マルチ銅オキシダーゼ (MnxG) がほかのアクセサリータンパク質 (MnxEF) とともにクローニングされ⁽³⁰⁾, 銅4原子を活性中心に保持する MnxG によって Mn^{2+} から2電子が順次引き抜かれる反応過程が明らかにされている ($Mn(II) \rightarrow Mn(III) \rightarrow Mn(IV)$)⁽³¹⁾. 生成した $Mn(IV)$ からマンガン酸化物の結晶が成長する過程は十分に明らかにされていないが, 30分程度の酵素反応で1~10nmのサイズをもつ微結晶 (crystallite) が形成され, その後, 酵素分子から放出されて凝集することで, 数ミクロンサイズの粒子へと成長する機構が提唱されている⁽³²⁾. サブユニット MnxE および MnxF の機能は不明であるが, マンガン酸化物形成において必須である. また, マンガン酸化細菌 *Roseobacter* sp. の培養液上清中では, スーパーオキシドによる Mn^{2+} の酸化が進行するが, 反応初期に20~100nmのコロイド状微結晶が生成する⁽²¹⁾. その後, 培養液中のタンパク質, 細胞外ポリマーなど何らかの分泌物によって微結晶の凝集が起こると報告され

ている⁽²¹⁾。

真菌では子囊菌 *Acremonium strictum* KR21-2において、初めてマンガン酸化物を析出させるマルチ銅オキシダーゼが精製された⁽³³⁾ (図3)。さらにXANESによる酵素反応の解析によって、反応初期からMn(IV)を主成分とする酸化物が生成することが明らかにされた。ごく最近、本酵素 (McoI) の遺伝子がクローニングされ、*Pichia*酵母の発現系を用いて酵素タンパク質の生産が可能になった⁽³⁴⁾。McoIのアミノ酸配列は真菌のビリルビンオキシダーゼ (E.C. 1.3.3.5) と高い相同性を示し、ホモロジーモデリングの結果からもMcoIはビリルビンオキシダーゼに帰属された⁽³⁴⁾。しかし、真菌のビリルビンオキシダーゼにマンガン酸化活性があるかどうかは不明である。興味深いことに、McoIによるMn²⁺酸化反応では直径約3μmと、細菌と比較してかなり大きな球状のマンガン酸化物粒子が生成する⁽³⁴⁾。酵素反応液は酵素、硫酸マンガン (基質) およびHEPES緩衝液で構成され、細菌の培養液で報告されているような凝集促進因子は含まれていない。さらに、微結晶が凝集して形成したとしても、ほぼ完全な球形であることから、ランダムな凝集が起こっているとは考えにくい。真菌 *A. strictum* KR21-2の特筆すべき点として、生成したマンガン酸化物粒子には酵素分子が活性を保持したまま結合していることが挙げられる⁽³⁵⁾。つまり、無機材料を担体とした固定化酵素が自然に作り出されているようである。酸化物相に結合した酵素の働きにより、微結晶がマイクロサイズの粒子にまで生成している可能性も否定できないだろう。

細菌および真菌によるマンガン酸化物生成において、ナノサイズの微結晶からどのようにマイクロサイズの酸化物相へと成長するのか現時点ではほとんど解明されておらず、今後の詳細な検討が待たれる。

さらに *A. strictum* KR21-2が生成したマンガン酸化物と金属元素の相互作用 (吸着、酸化還元反応) において、マンガン酸化物に担持されたマンガン酸化酵素が重要な役割を担うことも明らかになってきている (図4)。前述のとおり、微生物が作るマンガン酸化物にはZn²⁺やNi²⁺等の金属陽イオンが高濃度で収着するが、この際には酸化物相に収着していたMn²⁺がイオン交換反応によって放出されるはずである。しかしながら、マンガン酸化酵素の活性が保持されている酸化物相ではMn²⁺の放出が起きない^(36, 37)。同様の現象は、真菌 *Paraconiothyrium* sp. においても報告されている⁽³⁸⁾。さらに、マンガン酸化物によって、亜ヒ酸イオン (As(III))、Co(II)、Cr(III) はそれぞれAs(V)、Co(III)、Cr(VI)

図4 ■ 真菌 *Acremonium strictum* KR21-2のマンガン酸化物における自己再生機能

KR21-2が生成したマンガン酸化物とAs(III)等の金属イオンの反応において、酵素McoIが働かないようにした条件ではマンガン酸化物からMn²⁺イオンが放出される。しかし、McoIが働く条件ではMn²⁺イオンの速やかな再酸化が起こり、マンガン酸化物が再生する。

に急速に酸化されるが、この際にマンガン酸化物が還元されてMn²⁺が蓄積するため、やがてAs(III)等の酸化速度は低下する。しかしながら、マンガン酸化酵素が存在するとMn²⁺が再酸化されてマンガン酸化物相が“自己再生”するため、As(III)等を持続的に酸化できることになる^(39~41) (図4)。その結果、コバルトの取り込みでは、酸化物相のマンガンに対するモル比で2.5倍にまで増加することが示されている⁽⁴⁰⁾。

これらの結果は、マンガン酸化酵素がマンガン酸化物の生成を担うだけでなく、生成したマンガン酸化物とほかの金属元素との相互作用にも影響を及ぼすことを示している。ただし、細菌が作るマンガン酸化物ではCo(II)やCr(III)に対する高い反応性が報告されているものの、真菌で見られるような酵素が関与する自己再生機能は報告されていない。マンガン酸化物-金属元素の相互作用は、種々の元素の環境動態を理解するうえで重要であるばかりでなく、後述するように環境技術への応用を考えるうえでも重要であるといえる。マンガン酸化酵素の機能について解析を一層進める必要がある。

環境技術に応用するうえで何が課題となるか？

数mg/L以下の比較的低濃度のマンガンを含む地下水では、かなり以前から、マンガン酸化菌を砂ろ過槽内に定着させてマンガン酸化物として沈積させる除鉄・除マンガン処理装置が用いられている⁽⁴²⁾。As(III)が混在する地下水ではマンガン酸化物によるAs(V)への酸化と吸着によってマンガンおよびヒ素の同時除去が可能である⁽⁴³⁾。

地下水の処理では外部から有機物を供給することはないが、地下水中に微量含まれる有機物に加えて、アンモ

ニウムイオンが混在する場合は増殖した硝化菌によって、太陽光が当たる環境では微細藻類によって有機物が産生される。従属栄養性であるマンガン酸化菌は、これらの独立栄養生物が産生した有機物をエネルギー源、炭素源として利用すると考えられる。外部からアンモニウムイオンを供給することで、マンガン酸化菌の活性を増強させるバイオリアクターも開発されている⁽⁴⁴⁾。微細藻類によるマンガン酸化反応を利用すれば、光エネルギーを利用した処理も可能であろう。

マンガンの負荷量が多い（＝濃度が高い、あるいは時間当たりの流入水量が多い）場合は、マンガン酸化菌の増殖を促すための有機物供給が課題になってくる。鉱山で排出されるマンガン含有坑廃水の処理技術として、海外では石灰石等のろ材を導入した接触酸化プロセスが実用化されているが、その前段に人工湿地を設置することが効果的であるとされている⁽⁴⁵⁾。人工湿地からは、植栽植物や微細藻類の一次生産により有機物が供給される。また、前段に堆肥充填槽や木材チップ充填槽の設置を検討した事例もあるが、有機物が過剰に供給されることでマンガン除去率が低下したとの報告があり⁽⁴⁶⁾、外部から供給する場合は供給量にも注意する必要がある。有機物濃度が高い条件では、ほかの従属栄養細菌が旺盛に増殖し、マンガン酸化菌の働きが排除されてしまうことがよくある。

また、マンガン酸化菌はpH中性で働くため、酸性坑廃水のように酸性条件ではpH調整が必要である。一方でpH 5～6の弱酸性で働くマンガン酸化細菌が近年見つかっており⁽⁴⁷⁾、今後の研究によって酸性環境で適用可能な生物処理プロセスが開発されることが期待される。

マンガン酸化物は金属陽イオンに対する高い収着容量をもつため、亜鉛や鉛等の有害金属イオンの同時除去やセリウム等の希土類元素イオンの回収が検討されている⁽⁴⁸⁾。従来、細菌によるマンガン酸化は微量の重金属イオンにより阻害されることが報告され、*Leptothrix discophora* SS-1では10μM（＝0.65mg/L）のZn²⁺により阻害を受ける⁽⁴⁹⁾。マンガン酸化細菌の集積培養系では、5mg/L Mn²⁺とともに1mg/LのZn²⁺またはNi²⁺を添加するとマンガン酸化が大きく阻害され、マンガン酸化物によるZn²⁺やNi²⁺の取り込みも強く制限された⁽⁵⁰⁾。ただし、真菌では重金属イオンに対する感受性はかなり低く、さらに酵素活性を担持したマンガン酸化物が生成した後であれば、0.5 mM Zn²⁺（＝33mg/L）が混在していてもMn²⁺は速やかに酸化されることが明らかになっている⁽³⁷⁾。Co²⁺イオン⁽⁴⁰⁾やCe³⁺イオン⁽⁵¹⁾の酸化・吸着においては、酵素の関与によりマンガン酸化物の自己再

生機能が起ころうが、この機能を活用できれば効率的な金属回収が可能である。ただし、ほかの金属イオンの混在下でどのような影響が現れるかは、酵素反応における金属イオン間の競争、生成したマンガン酸化物と金属イオン間の相互作用、さらには酸化物相上の酵素活性の働きによって決まると考えられるため、詳細な検討が必要であろう。

微生物が作るマンガン酸化物は有機化合物の酸化剤としても機能することから、最近では微量化学物質の酸化処理への利用も活発に研究されている。マンガン酸化細菌を含む生物汚泥を用いたバイオリアクター試験では、ビスフェノールA、17α-エチニルエストラジオール、テトラサイクリン等の分解への寄与が報告されている⁽⁵²⁾。一方で、ごく低濃度（ppbレベル）の化学物質分解では、処理水中に残存する有機物質との競合によって分解効率が低下することも示唆されており⁽⁵³⁾、今後詳細を明らかにする必要がある。

結びに代えて

1900年代初めにマンガン酸化菌の存在が報告されて以降、世界中で多くの研究が行われ、微生物の生理・生態やマンガン酸化機構、マンガン酸化物の生成過程、マンガン酸化物-金属元素等の相互作用に関する成果が集積してきた。しかし一方で、湖沼のフィラメント状粒子の生成など以前から解決されずに残されている課題や、酵素反応によるマンガン酸化物の粒子成長過程など、研究の進展により新たに提示された課題が多くある。さらには、環境技術への展開や、ここでは取り上げなかったが、微生物が作り出す酸化物を高機能触媒などに利用しようとする試みも始まっている。マンガン酸化菌の研究は、原子スケールから生物圏での元素循環のスケールまで、非常に大きな広がりをもっている。また、ここで扱う研究領域は微生物学・微生物生態学、生物地球化学、無機化学、環境工学にまたがっており、研究分野の点でも大きな広がりをもつ。多様な視点と技術をもった研究者が参画して学際的に取り組むことにより、この先マンガン酸化菌の研究がさらに進展することに期待したい。

文献

- 1) B. M. Tebo, J. R. Bargar, B. G. Clement, G. J. Dick, K. J. Murray, D. Parker, R. Verity & S. M. Webb: *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, **32**, 278 (2004).
- 2) 白井 朗, 高橋嘉夫, 伊藤 孝, 丸山明彦, 鈴木勝彦: “海底マンガン鉱床の地球科学”, 東京大学出版会, 2015.
- 3) Y. Tani, N. Miyata, K. Iwahori, M. Soma, S. Tokuda, H.

- Seyama & B. K. G. Then: *Appl. Geochem.*, **18**, 1541 (2003).
- 4) B. M. Tebo, H. A. Johnson, J. K. McCarthy & A. S. Templeton: *Trends Microbiol.*, **13**, 421 (2005).
- 5) K. Geszvain, C. Butterfield, R. E. Davis, A. S. Madison, S.-W. Lee, D. L. Parker, A. Soldatova, T. G. Spiro, G. W. Luther III & B. M. Tebo: *Biochem. Soc. Trans.*, **40**, 1244 (2012).
- 6) N. Miyata, Y. Tani, M. Sakata & K. Iwahori: *J. Biosci. Bioeng.*, **104**, 1 (2007).
- 7) N. Miyata, K. Maruo, Y. Tani, H. Tsuno, H. Seyama, M. Soma & K. Iwahori: *Geomicrobiol. J.*, **23**, 63 (2006).
- 8) C. M. Santelli, S. M. Webb, A. C. Dohnalkova & C. M. Hansel: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **75**, 2762 (2011).
- 9) C. M. Hansel, C. A. Zeiner, C. M. Santelli & S. M. Webb: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 12621 (2012).
- 10) M. Villalobos, B. Lanson, A. Manceau, B. Toner & G. Sposito: *Am. Mineral.*, **91**, 489 (2006).
- 11) L. Saratovsky, P. G. Wightman, P. A. Pastén, J. F. Gaillard & K. R. Poeppelmeier: *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 11188 (2006).
- 12) S. Grangeon, B. Lanson, N. Miyata, Y. Tani & A. Manceau: *Am. Mineral.*, **95**, 1608 (2010).
- 13) S. Bodei, A. Manceau, N. Geoffroy, A. Baronnet & M. Buatier: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **71**, 5698 (2007).
- 14) Y. M. Nelson, L. W. Lion, M. L. Shuler & W. C. Ghiorse: *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 421 (2002).
- 15) Y. T. Meng, Y. M. Zheng, L. M. Zhang & J. Z. He: *Environ. Pollut.*, **157**, 2577 (2009).
- 16) Y. Tani, M. Ohashi, N. Miyata, H. Seyama, K. Iwahori & M. Soma: *J. Environ. Sci. Health A*, **39**, 2641 (2004).
- 17) S. M. Webb, C. C. Fuller, B. M. Tebo & J. R. Bargar: *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 771 (2006).
- 18) Y. Tani, N. Miyata, M. Ohashi, T. Ohnuki, H. Seyama, K. Iwahori & M. Soma: *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 6618 (2004).
- 19) J. Watanabe, Y. Tani, N. Miyata, H. Seyama, S. Mitsunobu & H. Naitou: *Chem. Geol.*, **306-307**, 123 (2012).
- 20) H. L. Ehrlich & D. K. Newman: "Geomicrobiology, 5th ed.," CRC Press, 2009.
- 21) D. R. Learman, B. M. Voelker, A. S. Madden & C. M. Hansel: *Front. Microbiol.*, **4**, 262 (2013).
- 22) D. L. Chaput, A. J. Fowler, O. Seo, K. Duhn, C. M. Hansel & C. M. Santelli: *Sci. Rep.*, **9**, 18244 (2019).
- 23) L. Y. Stein, G. Jones, B. Alexander, K. Elmund, C. Wright-Jones & K. H. Nealson: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **42**, 431 (2002).
- 24) P. Yli-Hemminki, K. S. Jørgensen & J. Lehtoranta: *Geomicrobiol. J.*, **31**, 263 (2014).
- 25) D. L. Chaput, C. M. Hansel, W. D. Burgos & C. M. Santelli: *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, 2189 (2015).
- 26) C. R. Anderson, R. E. Davis, N. S. Bandolin, A. M. Baptista & B. M. Tebo: *Environ. Microbiol.*, **13**, 1561 (2011).
- 27) J. Liang, Y. Bai, Y. Men & J. Qu: *ISME J.*, **11**, 67 (2017).
- 28) 一瀬 諭, 若林徹哉, 岡本高弘, 藤原直樹, 井上 健, 加賀爪敏明, 宮島利宏: 用水と廃水, **48**, 439 (2006).
- 29) S. Furuta, H. Ikegaya, H. Hashimoto, S. Ichise, T. Kohno, N. Miyata & J. Takada: *Geomicrobiol. J.*, **32**, 666 (2015).
- 30) C. N. Butterfield, A. V. Soldatova, S.-W. Lee, T. G. Spiro & B. M. Tebo: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 11731 (2013).
- 31) A. V. Soldatova, C. A. Romano, L. Tao, T. A. Stich, W. H. Casey, R. D. Britt, B. M. Tebo & T. G. Spiro: *J. Am. Chem. Soc.*, **139**, 11381 (2017).
- 32) C. A. Romano, M. Zhou, Y. Song, V. H. Wysocki, A. C. Dohnalkova, L. Kovarik, L. Paša-Tolić & B. M. Tebo: *Nat. Commun.*, **8**, 746 (2017).
- 33) N. Miyata, Y. Tani, K. Maruo, H. Tsuno, M. Sakata & K. Iwahori: *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 6467 (2006).
- 34) F. Tojo, A. Kitayama, N. Miyata, K. Okano, J. Fukushima, R. Suzuki & Y. Tani: *Catalysts*, **10**, 686 (2020).
- 35) J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata & H. Seyama: *Environ. Technol.*, **34**, 2781 (2013).
- 36) J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata & H. Seyama: *Appl. Geochem.*, **47**, 198 (2014).
- 37) J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, F. Tojo & H. Seyama: *Chem. Geol.*, **383**, 155 (2014).
- 38) Q. Yu, K. Sasaki, K. Tanaka, T. Ohnuki & T. Hirajima: *Geomicrobiol. J.*, **30**, 829 (2013).
- 39) J. Watanabe, Y. Tani, J. Chang, N. Miyata, H. Naitou & H. Seyama: *Chem. Geol.*, **347**, 227 (2013).
- 40) J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, H. Seyama & K. Tanaka: *Appl. Geochem.*, **37**, 170 (2013).
- 41) R. Suzuki, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata & K. Tanaka: *Catalysts*, **10**, 44 (2020).
- 42) 宮田直幸, 谷 幸則: 水環境学会誌, **28**, 68 (2005).
- 43) I. A. Katsoyiannis, A. I. Zouboulis & M. Jekel: *Ind. Eng. Chem. Res.*, **43**, 486 (2004).
- 44) L. T. T. Cao, H. Kodera, K. Abe, H. Imachi, Y. Aoi, T. Kindaichi, N. Ozaki & A. Ohashi: *Water Res.*, **68**, 545 (2015).
- 45) C. M. Neculita & E. Rosa: *Chemosphere*, **214**, 491 (2019).
- 46) F. Luan & W. D. Burgos: *Mine Water Environ.*, **38**, 130 (2019).
- 47) D. M. Akob, T. Bohu, A. Beyer, F. Schäffner, M. Händel, C. A. Johnson, D. Merten, G. Büchel, K. U. Totsche & K. Küsel: *Appl. Environ. Microbiol.*, **80**, 5086 (2014).
- 48) 谷 幸則, 宮田直幸: 環境技術, **48**, 341 (2019).
- 49) L. F. Adams & W. C. Ghiorse: *J. Bacteriol.*, **169**, 1279 (1987).
- 50) N. Miyata, D. Sugiyama, Y. Tani, H. Tsuno, H. Seyama, M. Sakata & K. Iwahori: *J. Biosci. Bioeng.*, **103**, 432 (2007).
- 51) H. Zheng, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata & F. Tojo: *Appl. Geochem.*, **71**, 110 (2016).
- 52) Z. He, Q. Zhang, Z. Wei, Y. Zhao & X. Pan: *Sci. Total Environ.*, **690**, 417 (2019).
- 53) K. M. Furgal, R. L. Meyer & K. Bester: *Chemosphere*, **136**, 321 (2015).

プロフィール

宮田 直幸 (Naoyuki MIYATA)
 <略歴>1990年岐阜大学農学部卒業／
 1996年静岡県立大学大学院生活健康科学
 研究科助手／1998年大阪大学大学院工学
 研究科博士後期課程修了／2007年秋田県
 立大学生物資源科学部准教授／2015年同
 教授，現在に至る<研究テーマと抱負>微
 生物機能を利用した環境技術の開発，生態
 工学的手法による富栄養化湖沼の水質改善
 <趣味>読書，ジョギング<所属研究室
 ホームページ> <http://www.akita-pu.ac.jp/bioresource/dbe/eco/index.html>

谷 幸則 (Yukinori TANI)
 <略歴>1991年北海道大学理学部科学科卒
 業／1996年東京大学大学院理学系研究科博
 士後期課程修了／同年静岡県立大学大学院
 生活健康科学研究科助手／2008年同大学
 環境科学研究所准教授／2014年同大学食
 品栄養科学部准教授／2017年同教授，現
 在に至る<研究テーマと抱負>微生物の無
 機元素変換機能を利用した環境浄化，汽水
 域における光合成微生物の研究<趣味>釣
 り，キャンプ<所属研究室ホームページ>
<http://dfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/labs/emb/index.html>

Copyright © 2020 公益社団法人日本農芸化学会
 DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.58.562