

## 亜リン酸を利用したバイオテクノロジー ～未利用リン資源の活用と新しいバイオ技術開発～

広島大学大学院 准教授・廣田 隆一

### 1) はじめに

リンは肥料や工業原料として欠かすことができない資源であるが、近い将来枯渇することが懸念されている。化石燃料には様々な代替エネルギーが存在するが、リンに変わるものは存在しない。しかし、リンは化石燃料と異なり、リユースやリサイクルが可能である。我が国のように資源を持たない国が、今後直面するであろうリン資源枯渇危機に対応するには、いわゆる3R（リデュース、リユース、リサイクル）に取り組み、リンのクローズドループリサイクル（完全リサイクル）を達成することが必要になる。微生物はリンの取り込みや蓄積能力に優れ、生活・工業排水などからリンを回収（リサイクル）するための有効なツールとして利用される。しかし、一般に生物はリンの酸化数が+Vのリン酸（ $\text{HPO}_4^{2-}$ ）しか利用できず、リンの酸化数が小さな“還元型”のリン化合物は生物に対して不活性であると考えられてきた。他方、還元型リン化合物の利用は、化学工業の発達と共に増加しており、それに伴い亜リン酸（ $\text{HPO}_3^{2-}$ 、リンの酸化数 +III）を含む廃棄物の量が増加している。これらの多くは有効に活用されることなく廃棄されている未利用のリン資源である。近年、特殊なバクテリアに還元型リン化合物の代謝能力が備わっていることが発見され、私達はこの能力を活用して亜リン酸の有効利用（リデュース、リユース）に資するバイオテクノロジー開発に取り組んでいる。特に、亜リン酸がほとんどの生物に対して不活性であることや、環境中では有効な濃度で存在しないという、「亜リン酸ならでは」の特徴に着目することで、従来では実現困難な新しいバイオテクノロジーの開発が可能になってきた。今回のセミナーでは、関連するバイオ分野の世界的な動向も含めて私達の研究を紹介したい。

### 2) 亜リン酸廃棄物と微生物の亜リン酸利用能力

亜リン酸を含む廃棄物は化学工業の発達とともに増加しており、主に次の2つの化学プロセスからの排出量が多い。一つ目は、ハロゲン化剤として広く使用される三塩化リンを使った反応プロセスである。三塩化リンは油脂類などから酸クロライドを合成する反応によく使われており、反応後に脱クロル化して亜リン酸が生じる。三塩化リンの使用量について詳細は把握できていないが、世界中で少なくとも年間30万トン近くが使われているようである。二つ目は、次亜リン酸を用いた無電解ニッケルメッキのプロセスである。ニッケルメッキは自動車のボディなどの金属表面から、半導体やコンピューター部品に至るまで、様々な基質表面の加工に広く用いられており、次亜リン酸の酸化に伴って生じた亜リン酸を含む廃棄物は年間約3万トンにのぼる。この二つから排出されるリンだけで日本が使用する



PtxD の遺伝子を目的の微生物に導入し、亜リン酸をリン源として供給とすれば、PtxD 遺伝子導入株だけが増殖できると考えた (図 1)。酵母と大腸菌に PtxD 遺伝子を導入した株を作製し、それらの亜リン酸培地での増殖を調べた結果、リン酸使用時とほぼ同等の速度で増殖することが可能であった。また、作製した PtxD 遺伝子導入株に対して約 100 倍の納豆菌が共存しても、亜リン酸を使って培養すれば培養終了時 (48 時間後) には PtxD 導入株が 96% 以上の割合で優占化させることができた。つまり、雑菌が混入しても、本手法を用いれば目的株のみを狙って培養できることが実証された。抗生物質を使用した培養液では特別な排水処理が必要になることも併せ考えると、環境にも配慮したシステムであると言える。

#### 4) 亜リン酸を使って狙った生物だけを生育させる：その② ～農作物の雑草防除～

この「狙った生物だけを生育させる」というコンセプトは農業における雑草防除にも応用できる。亜リン酸を利用できる植物は存在しないため、PtxD を目的作物に導入し、施肥するリン肥料を亜リン酸にすれば、雑草を抑え目的作物だけを生育させることができる (図 2)。米国環境保護庁 (EPA) およびフランス食品環境労働衛生安全庁 (ANSES) は、亜リン酸 (亜リン酸塩) には、毒性が認められないなど安全性を認めており、他の非選択的な除草剤と比べるとはるかに安全性が高い。さらに注目すべきは、この方法

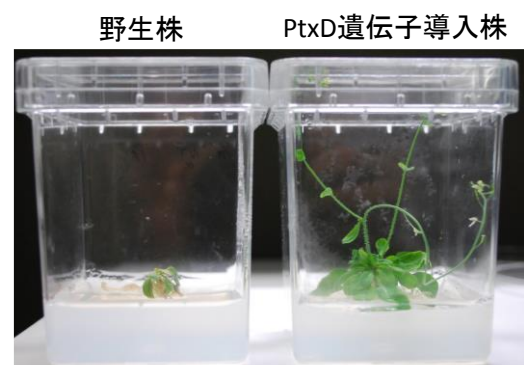


図 2. PtxD 遺伝子を導入したシロイヌナズナ  
亜リン酸をリン源とする培地では野生株は生育できないが PtxD 導入株は生育できるようになる。

の優れた点として、リン資源の大きな節減 (リデュース) が期待されることである。鉄やアルミの成分が多い土壌では、リン酸が固定化されてしまうため、過剰にリンを撒く傾向が定着している。我が国では約 40 万トン/年のリンが農地に投入されているが、作物中に回収されるリンはわずかに約 4.3 万トンであり、実に 9 割近くのリンが無駄になっている。亜リン酸の溶解度はリン酸のおよそ 1000 倍であり、土壌には固定されにくい。つまりこの技術は、雑草防除と省リンを両立する、従来のコンセプトとは全く異なるリン施肥および雑草防除技術である。PtxD 導入作物は遺伝子組み換え体に該当するが、現在、米国で作られるトウモロコシ、大豆、綿花の作付面積は、既に 90% 以上が除草剤あるいは病虫害耐性の組換え体である。米国モンサント社が開発している除草剤ラウンドアップ (化合物名グリホサート) 耐性組換え体はその大部分を占めるが、ラウンドアップには発がん性が報告されたり、耐性植物が出現したりするなどの問題が生じており、これに変わる手法の開発が望まれている。PtxD の導入は、トウモロコシ、綿花、イネなどに有効であることが示されており、米国では近い将来利用される可能性がある。

#### 5) 亜リン酸を使って微生物を封じ込める ～遺伝子組み換え生物利用の安全性向上～

遺伝子組換え技術は現在のバイオテクノロジーを支える基盤技術である。異種生物由来の遺伝子を宿主微生物に導入することでその能力を飛躍的に高めることができる。これら遺伝子組換え微生物の利用は、もはや実験室内の物理的に封じ込められた範囲だけでなく、環境、医療、農業分野など開放系での様々な局面が想定されている。しかし、遺伝子組換え微生物の開放利用は、生物多様性の保全に及ぼすリスクの点から、カルタヘナ法と呼ばれる法律による規制を受ける。「生物学的封じ込め」とは、組換え体が環境中では生存できない遺伝的性質をあらかじめ与えておくことで拡散を防ぐという技術的な概念である。サステナブル社会の構築のために、遺伝子組換え体へ依存せざるを得ない状況が生まれつつある現在、この生物学的封じ込めによる安全性向上のための技術（バイオセーフティー技術）が注目され始めている。

先に述べたように、亜リン酸は環境中にはほぼ存在しない。一方でリンは生物の必須元素である。そこで、リン酸は利用せず亜リン酸だけを利用する性質を作り出すことができれば、その生物は環境中では生存できないことになる。つまり、封じ込め技術の原理として利用できる。亜リン酸利用能の付与は上述の様に PtxD 遺伝子の導入によって可能であった。次に、リン酸の利用能力を喪失させるためには、内在性のリン酸輸送体（細胞内へリンを取り込むポンプのような役割をするタンパク質）遺伝子の破壊により可能であった。問題になったのは、「リン酸を取り込まず、亜リン酸だけを選択的に細胞内に取り込むことのできる輸送体」が存在するかということであったが、幸運にもこの様な性質を示す輸送体を発見することができた。以上の要件を整えた株を作製したところ、期待通り亜リン酸だけしか利用できない株を得ることができた（図3）。これらの株は亜リン酸が存在しない環境では全く増殖することができず、高い封じ込め効果が発揮されていることが確認された。

この技術は非常に高いセーフティレベルを示し、さらに亜リン酸は安価に得られるため、非常に実用性の高い技術として期待されている。本技術は現在、科学技術振興機構の先端的低炭素化技術開発（JST-ALCA）において実用化に向けた研究が進められている。

## 6) おわりに

以上紹介したバイオテクノロジーは、いずれも亜リン酸を単なるリン源として利用している技術ではなく、亜リン酸だからこそ可能になる技術である。これらの技術によって亜リン酸そのものの利用価値が高まれば、3Rの観点から廃棄亜リン酸を有効活用するだけでなく、今後積極的に亜リン酸を必要とするニーズが新たに生まれてくるかもしれない。

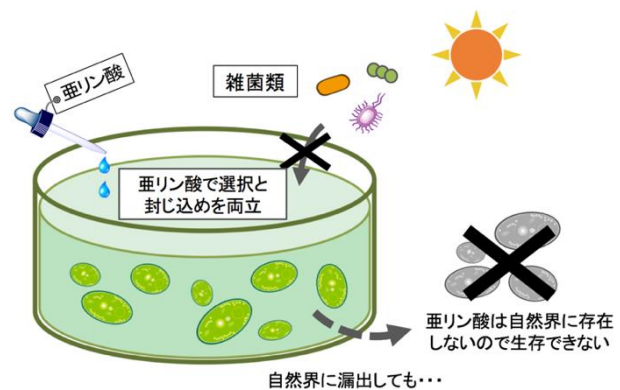


図3. 亜リン酸に生育を依存させて微細藻類を培養槽内に封じ込める手法のイメージ。亜リン酸依存性を付与した組換え微細藻類は、亜リン酸を与えた培養槽でのみ生育し、環境中では生育しないため、生物多様性への影響に配慮した遺伝子組換え体の安全な利用が可能になる。