

女性ホルモン物質分解微生物の探索

○吉元 健司・長井 富美子・大村 浩・藤本 淳治・渡辺 幸一・牧野 孝

(株ヤクルト本社 中央研究所)

齋野 秀幸 (国土交通省 国土技術政策総合研究所)

【緒言】

17β-エストラジオール等の天然女性ホルモン物質は、下水処理水中でも検出頻度が高く、処理場での除去が十分に行われていない可能性が指摘されている。そこで今回、17β-エストラジオール等の女性ホルモン物質を特異的に分解する微生物を、下水処理場の活性汚泥から探索した。さらに、得られた女性ホルモン物質分解微生物の分解活性を測定するとともに、その微生物の同定を行ったので併せて報告する。

【微生物の分離】

17β-エストラジオールの流入下水中の濃度が比較的高い下水処理場を選定し、その生物反応槽から活性汚泥を採取した。集積培養には円筒形のカラムを用い、MDG 培地を用いて行った。炭素源として 0.1% の 17β-エストラジオールを添加し、25°C で約 10 週間培養して微生物を純化した。培養終了後、ISP 培地、R₂A 培地、YM 培地で菌株の選択および釣菌を行い、合計 56 株の微生物を得た。さらに、得られた微生物のスクリーニングを行い、GC-MS の分析により 100ppm の 17β-エストラジオールを 8 時間で 80% 以上分解する 5 株(D-I7,C-I2,A-Y2,D-Y4,E-Y5)を得た。

【微生物の同定】

スクリーニングにより選択した 5 株は、16SrDNA 配列を用いた分子進化系統解析に基づき、D-I7 は *Rhodococcus zopfii* C-I2 株は *Sphingomonas* sp.、A-Y2 株、D-Y4 株、E-Y5 株は、*Rhodococcus equi* と同定した。なお、A-Y2 株、D-Y4 株、E-Y5 株は、RAPD 試験により、別系統の株であることを確認した。

【分解活性】

100ppm の 17β-エストラジオールを添加した MDG 培地に選択した 5 株を植菌し、最大 24 時間培養した後、GC-MS で分解活性を測定した。培養液は、菌体も含めてメタノールで抽出し、Sep-Pak Plus C18(Waters No.036800)で濃縮し分析した。その結果、いずれの株も 17β-エストラジオールを 8 時間で 80%以上、24 時間で完全に分解することが判明した。また、薄層クロマトグラフの分析結果より、ヒドラーゼ反応によるエストロンへの変換ではないことを確認した。さらにこれらの株は、100ppm のエストロン、エストリオール、合成女性ホルモンであるエチニルエストラジオールをも短時間で分解することが明らかになった。現在、それぞれの物質について、分解経路等を検討中である。

【謝辞】

本研究を行うにあたり、汚泥を提供いただいた下水処理施設の皆様に深謝いたします。

Detection of Estrogen (E2, E1, E3, EE2) Decomposition Microorganism

Takeshi Yoshimoto, Fumiko Nagai, Hiroshi Omura, Junji Fujimoto, Koichi Watanabe. and Takashi Makino

(YAKULT CENTRAL INSTITUTE FOR MICROBIOLOGICAL RESEARCH)

Hideyuki Saino

(NATIONAL INSTITUTE FOR LAND AND INFRASTRUCTURE MANAGEMENT)

We have been looking for the microorganisms which disassembles estrogen selectively. We have performed enrichment culture (0.1 % (w/v) 17β-estradiol, 25 degree C, 10 weeks) of the activated sludge of sewage treatment plants using the MDG culture medium and obtained a total of 56 strains of microorganisms. We found from analysis of GC-MS five strains (D-I7, C-I2, A-Y2, D-Y4, and E-Y5) which can decompose more than 80 % of 100 ppm 17β-estradiol (E2) in 8 hours cultivation. These five microorganisms were identified as *Rhodococcus zopfii* (D-I7), *Sphingomonas* sp. (C-I2). and *Rhodococcus equi* (A-Y2, D-Y4, and E-Y5). These strains were potent enough to decompose estrone (E1), estriol (E3), and ethynylestradiol (EE2) up to 100 ppm for a short time. The decomposition pathway is now under study in detail.