

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24656268

研究課題名(和文) 遺伝子組み換え微生物によるコンクリート生化学的解体法の実現

研究課題名(英文) Development of biochemical demolishing method for concrete with genetically engineered microorganisms

研究代表者

千々和 伸浩 (CHIJIWA, Nobuhiro)

東京工業大学・理工学研究科・助教

研究者番号：80546242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、コンクリートの解体に適した化学物質を産生する微生物を遺伝子組み換えにより作成し、その菌を作用させることで、低コストで構造物を解体し、コンクリートをリサイクル可能な形に変える解体法の開発に挑戦したものである。解体の処理系として塩酸系、硝酸系の2つの酸生成システムを準備し、それぞれのシステムでの株を作成し、産生性能の確認を行った。しかしいずれの系でも意図したような培地pHの低下が観察されなかった。産生した化学物質を菌体外部へ速やかに排出する器官を設けるとともに、ベースとなる菌体に高い薬剤耐性が要求されることわかった。

研究成果の概要(英文)：This research aims to develop new concrete demolishing method with the genetically engineered microorganisms which produces special chemicals to dissolve cement hydrate. Two independent demolishing systems with microorganisms are designed; one is based on hydrochloric acid and the other is based on nitric acid. The acid producing performance of genetically engineered microorganisms are checked, but the results show that the pH of each culture media does not decrease against expectations in each systems. It is found that the organ to carry the produced chemicals out of the microorganism body and the tolerance property to the produced chemical are requested for the genetically modified microorganisms.

研究分野：コンクリート工学

キーワード：機能性細菌 形質転換 コンクリート 解体

1. 研究開始当初の背景

(1) 高度経済成長期に大量に建設されたインフラが建設から 50 年を迎え、経年劣化に伴う安全性能や使用性能の低下が問題視されるようになった。一方、我が国では生産年齢人口の減少や住まい方の変化により、特に地方自治体において財政が厳しい状況にあり、既存インフラを万全な状態に維持管理することが困難になりつつある。インフラは社会経済活動の基盤であり、その維持管理は人々の暮らしを成立させるのに必要不可欠な装置であるため、維持管理をいかに合理化し、少ないコストでインフラの機能を維持していくのが今後の社会保全において重大な課題である。合理的な維持管理の実施においては補修補強といった既存施設の延命だけでなく、解体・再構築や解体後のインフラ撤退も必要なオプションであり、安価でかつリサイクルに適した解体手法の開発が必要不可欠である。

(2) インフラの多くは鋼構造に比べて安価な鉄筋コンクリート構造により建設される。コンクリートの製造にあたっては良質な砂や砂利が必要不可欠であるが、良質な天然骨材の枯渇が進んでおり、持続可能な社会を構築するには骨材のリサイクル利用を促進する必要がある。

(3) コンクリートの解体には一般的に物理作用による破碎が用いられる。しかし骨材に付着したセメントペーストを除去するには多大なエネルギーを必要とする。骨材再生の過程で生じた粉塵は路盤材やコンクリートの混和材等に用いられる他は有効な活用法がなく、資源循環上適切とは言えない。また物理的破碎では爆破や衝撃による騒音が発生してしまうという欠点もある。

コンクリートのもう一つの解体手法である化学的解体は、化学処理によりコンクリートをリサイクルに適した形へと分解できたり、コンクリートの強度を問わずに適用できたりする他、騒音も発生しないなど現行の物理的解体法に無い魅力的な特長を有する。化学的解体法のもつこの高い潜在能力を活用することで、高齢化に伴って大量の発生が予想されるインフラの解体処理を合理化し、さらに骨材の完全なリサイクル循環利用を可能とすることが可能になると考えられる。

これまで化学的解体法の実現が阻まれてきたのは、反応性の高い薬剤を一度に用いると作業の安全性が損なわれることや、処理にはコンクリートと等量の薬液が必要となっており、そのコストが膨大であることが理由である。化学的解体法の実現のためには、何らかの方法でこれらの課題を解決する必要がある。

(4) 微生物作用によりコンクリートを改質する、あるいはひび割れを補修するという研究

が、ヨーロッパを中心に実施されだしている。しかしこれらの研究の多くはコンクリートを「改質」しようとするものであり、「解体」という観点から利用しようとするものは極めて少ない。

2. 研究の目的

本研究は遺伝子工学との学融合により、大気からコンクリートの解体に適した薬液を無尽に生成する微生物を作成し、高アルカリで膨大な質量をほこるコンクリート構造物をコンクリートから骨材とペーストを分離し、さらにペースト部についてはリサイクルに適した化学物質へと転換させることで、低コストで解体・リサイクルするという生化学的解体法の開発に挑戦したものである。これまでコスト等の問題に阻まれて実用が困難であった化学的解体法を、「生化学的解体法」として実現することを目指した。本研究の究極の目的とするのは解体コンクリートを次なるコンクリートの材料として再利用できる技術を確認し、完全な持続再生社会の構築に寄与することである。

3. 研究の方法

本研究では材料科学の知見と遺伝子工学の技術を融合し、生化学に基づく全く新しいコンクリート構造物の解体・分解方法の原理の確認を目指す。化学的解体法は、様々な長所を持ちながら、コストや作業安全性といった問題に阻まれ実用化されなかった。本研究では、セメント硬化体の分解に適した化学物質を無尽蔵に生み出す、遺伝子組み換え微生物を作成することで、生化学的解体法として化学的解体法を実現する。過去の研究から得られてきた基礎的知見を基に、生化学的解体に必要な諸機能を有する菌を作成するとともに、菌体自身の生育能力を向上させることで解体効率の向上を図る。

本研究は4つの段階で構成した。1段階目では、先の萌芽研究において特定されたコンクリート解体に必要な遺伝子の大腸菌への遺伝子の組み込みを行うと共に、酸生成による培地 pH の確認、及び必要に応じた遺伝子の変更を行う。2段階目では極限環境に生育する微生物からその形質を付与している塩基配列を特定・抽出して移植し、組み換え菌自身が生成した薬液で死滅しないように形質転換する。3段階目では実際にコンクリート小片上で侵食試験を行い、高アルカリ環境下でも遺伝子組み換え菌が生育し、設計した機能が発揮されるのを確認する。4段階目では生成されるスラッジの特性を分析し、よりリサイクルに適した形での排出になるように全体システムの変更や別微生物を用いた追加処理の検討を行う。

4. 研究成果

(1) 研究の実施にあたり、研究代表者らによる過去の研究を参考に解体に有効な化学物

質の検討を行ったところ、塩酸系(炭酸系)、硝酸系の2つの酸生成系統が有効であると判断し、それぞれの系統での株の作成を並列で行い、その産生性能の確認を行うこととした。なお硫酸系による処理は、臭気の発生とともに硫酸カルシウムの沈澱による空隙の閉塞が破碎速度を低下させる恐れがあることから候補から除外した。本研究は、これらの処理系統の実現に必要な遺伝子配列を自然界から獲得あるいは人工合成し、各遺伝子配列を発現ベクタープラスミドへと組み込み、このプラスミドタンパク発現機能を有す大腸菌へと導入することでその形質転換の実施、導入成功株の単離を行う。

(2) 硝酸系の処理プロセスを実現するためには、まず窒素固定に関与する2種の遺伝子の単離が必要であった。それぞれの遺伝子を有する各宿主から該当箇所の単離をおこない、両遺伝子の獲得に成功した。これらの2種類の遺伝子を組み込んだ遺伝子発現ベクターを作成し、タンパク発現大腸菌にて導入遺伝子が発現させた結果、有意に窒素量が上昇していることが確認され、導入した遺伝子により大腸菌に窒素固定という形質を獲得させることに成功した。

硝酸系による処理には固定された窒素を酸化し、産生された酸を定常的に菌体外へと排出する機構を設ける必要があり、そのためには窒素固定に必要な2種類の遺伝子の他に4種類の必要な遺伝子配列が必要であった。しかしこれらの遺伝子について、単離を試みたものの困難であったため、DNAを人工合成法することとし、これにより必要な全ての遺伝子配列を取得した。これらの遺伝子配列を発現ベクターに組み込む際、スクリーニングのための抗生物質耐性発現サイトが、導入しようとする遺伝子配列の導入にあたって制限酵素により切断される可能性があったため、今回の実験では一度に2種類の遺伝子が発現できるSD配列を遺伝子間に組み込む形とした。これによって1種類の発現ベクターに4種類すべての遺伝子を組み込むことが可能となり、合計6種類の遺伝子すべてを菌へと導入できるようになった。この発現ベクターを構築した後、タンパク発現機能を有する大腸菌に対して、2回の発現ベクター導入による形質転換作業を行った。

形質転換後、抗生物質に耐性を持つ菌を単離し培養したがIPTG投与による導入遺伝子のタンパク発現および酸産生能の検討を行った。その結果、培地のpH低下がみられず、タンパク発現も起きていないことが判明し、系を見直し、原因特定を行い、実験系を再設計する必要が生じた。

(3) 塩酸系では生物中の破骨細胞が骨を吸収するメカニズムを応用し、計6種類の遺伝子配列が必要であることが研究代表者らの過去の研究から明らかになっていたことから、

これらの遺伝子を2つずつ計3つのプラスミドに組み込み、その培地pHを確認したが、意図したようなpHの低下は見られなかった。過去の実験においては、3つ目のベクターの組み込みが困難であったため、酸生成に必要な4種類の遺伝子のみを組み込んだ系で試験的に培地pHを計測したところ、pHの低下が観察されていた。今回の実験においてpHの低下がみられなかったのは、3つ目のベクターにより阻害されている可能性が高い。ただし今回の研究の範囲では、この原因を解明することはできず、条件の再整理と共に遺伝子群の見直しを行う必要がある。

(4) 今回の研究では硝酸系、塩酸系ともに意図したような培地pHの低下が観察されない結果となった。原因を解明すべく、組み込み遺伝子配列の確認、遺伝子組み込み手法の変更、培養温度の調整、抗生物質濃度の調整など含めた確認実験を繰り返し、原因の特定を試みた。導入した発現系の有無を確認した結果からは、系は予定通り菌に導入されていることが確認できた。また各種培養条件に関する確認の結果からも、条件を変えても生育状況に大きな変化が見られない結果となった。

これらの結果を総合すると今回の実験においてコンクリートの分解に必要な物質が生成されていない原因として、組み込んだ遺伝子同士間の相互作用など何らかのバイアスによって生成機構の一端を担う遺伝子の発現が阻害されている可能性や、多数の遺伝子組み込みによる菌体へのストレスが大きい可能性、発現タンパクにより生成された解体に必要な化学物質が菌体への負荷となり、遺伝子が発現した菌体が選択的に死滅している可能性など、いずれも遺伝子組み込み操作に由来した菌体の生育阻害が原因である可能性が濃厚であることがわかった。

今後の対策としてコンクリートの分解に必要な化学物質を菌体外部へ速やかに排出する器官を設けることや、馴化によって菌体自身の耐性付与を行うか又は薬剤耐性の高い菌体をベースに用いることが、本手法において設計した分解反応系でコンクリートの生化学的解体を実現する上で必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千々和 伸浩 (CHIJIWA, Nobuhiro)
東京工業大学・理工学研究科・助教
研究者番号: 80546242

(2)研究分担者

渡邊 学 (WATANABE, Manabu)
東京大学・新領域創成科学研究科・准教授
研究者番号： 70376606

(3)連携研究者

()

研究者番号：