

1201

4-ニトロフェノール分解菌*Rhodococcus* sp.PN1株の 分解代謝物蓄積株の分離

(姫路工大・工・応化) ○阿部由克、森口博司、武尾正弘、
根来誠司

【目的】 我々は、生物毒性の強いニトロフェノールの分解機構を解明するために、活性汚泥中より単離した、4-ニトロフェノール(4-NP)分解菌*Rhodococcus* sp. PN1株の4-NP分解経路の解析を行なってきた。微量生成する中間代謝物の分析と酸素吸収実験から、本菌株が二種類の4-NP分解経路を有することを推察した。ここでは更に分解経路の解析を進めるために、中間代謝物を蓄積する変異株の取得を試みた。

【方法及び結果】 変異株を取得するため、定法に従いNTGを用いてPN1株の突然変異実験を行なったところ、4-NPを含む寒天培地にレプリカした5000株のうち、明らかに野生株と異なるオレンジ色の呈色を示す変異株が12株得られた。そこで、変異株を用いて4-NP分解試験を行なったところ、HPLC分析でこの呈色物質が化学量論的に蓄積されることが分かった。この物質を同定するために、GC/MS分析を行なった結果、本物質が4-ニトロカテコール(4-NC)であることを確認した。従って、本菌株が4-NPを4-NCを経由して分解する経路を有することが、まず証明された。

Isolation of 4-nitrophenol degrading *Rhodococcus* sp.PN1 mutants
accumulating intermediates.

○Yoshikatsu Abe, Hiroshi Moriguchi, Masahiro Takeo, Seiji Negoro
(Dept.Appl.Chem., Himeji Inst.Technol.)

【Key Words】 4-nitrophenol, 4-nitrocatechol, NTG mutation, pathway

1202

キノリンの微生物分解

○横川泰樹 吉竹宣宏 山本千勢子 横田篤 富田房男
(北大院・農・応用菌学)

【目的】 化石燃料中の窒素化合物の除去は、環境保全の観点から重要な課題の一つである。当研究室ではこれまでにキノリンを窒素化合物のモデルとし、これを好気条件下で資化できる微生物の探索を行い、優良なキノリン分解株として、*Arthrobacter* sp. T59-47-1株を取得した。そのキノリン代謝に関する知見を深めるため、キノリン代謝の初段階酵素であるキノリン-2-オキシドレダクターゼの精製、諸性質を検討し、本酵素はL,M,Sの3つのサブユニットから構成されていることを明らかにした。今回は、本酵素の各サブユニットのN末端アミノ酸配列を決定し、それを基に、キノリン-2-オキシドレダクターゼ遺伝子(qor遺伝子)のクローニングと解析を行った。

【方法及び結果】 キノリン-2-オキシドレダクターゼの各サブユニットのN末端アミノ酸配列をもとにプライマーを作製しゲノムDNAを鋳型としてPCRを行った結果、約900bpのMサブユニット遺伝子、約500bpのSサブユニット遺伝子と思われる断片が増幅され、各サブユニット遺伝子が隣接していることが分かった。また、得られたPCR断片をプローブとし、T59-47-1株の全DNAのバルスフィールドゲル電気泳動後のサザンハイブリダイゼーションの結果、T59-47-1株はゲノムDNAの他に、2つのプラスミドを有しており、qor遺伝子は、直鎖にして約200kb pのプラスミド(pYGS)に局在していることが明らかとなった。このpYGSを回収後、EcoRI、EcoRVでそれぞれ消化し、qor遺伝子を含む約10kb pのEcoRV消化断片および約8kb pのEcoRI断片をpBluescript II KS(-)にクローニングした。このうちqor遺伝子周辺の塩基配列を決定し、各サブユニットのアミノ酸配列のホモロジー検索を行った結果、各サブユニットともキサンチンオキシゲナーゼファミリーの酵素が上位を占め、特に*Pseudomonas putida* 86のキノリン-2-オキシドレダクターゼ、*Arthrobacter nicotinovorans*のニコチンデヒドロゲナーゼと、アミノ酸でそれぞれ30%前後の相同性を示した。現在、取得しているqor遺伝子周辺約15kb pのDNA断片の解析を進め、キノリン分解遺伝子群の取得を試みている。

1) 吉竹宣宏 山本千勢子 横田篤 富田房男 日本農芸化学会北海道支部春期合同学術講演会, p.34 (1996)

Degradation of quinoline by *Arthrobacter* sp. T59-47-1

○Yasuki Yokokawa, Nobuhiro Yoshitake, Chiseko Yamamoto, Atsusi Yokota, Fusao Tomita (Div. of Applied Bioscience, Grad. School of Hokkaido Univ.)

【key Words】 quinoline *Arthrobacter* sp. T59-47-1 quinoline-2-oxidoreductase