

1303 *Comamonas testosteroni* R5 株由来

フェノール水酸化酵素の新規の転写調節遺伝子の解析

○寺本真紀、原山重明、渡辺一哉 (海洋バイオ・釜石研)

【目的】 *Comamonas testosteroni* R5 株は我々が調べたフェノール分解菌の中で最も高い比活性を示し、かつフェノールに対して高い親和性を示す株である。昨年の本大会においてこの R5 株からフェノール水酸化酵素の調節遺伝子 (*phcS* と *phcR*) 及び構造遺伝子 (*phcKLMNOP*) をコードする DNA 断片をクローニングしたことを報告し、また PhcS がこの酵素の遺伝子発現の抑制に関与している可能性を報告した。本研究では、R5 株において発見されたフェノール水酸化酵素の発現を制御する新規の調節遺伝子 (*phcT*) について報告する。

【方法及び結果】 *phcS* の下流域をさらに解析したところ *xylS* と類似性をもつ open reading frame (*phcT*) が存在した。この *phcT*、*phcR* 及びフェノール水酸化酵素の構造遺伝子をコードする DNA 断片を *Pseudomonas aeruginosa* PAO1c 株 (catechol⁺ phenol⁻) に導入し、この株のフェノール酸素添加活性を *phcR* 及び構造遺伝子を含む DNA 断片を持つ PAO1c 株の活性と比較したところ、*phcT* を持つ PAO1c 派生株の方が比活性が高かった。このことから、PhcT がフェノール水酸化酵素遺伝子の発現を高めるのに関与している可能性が示唆された。現在、作製した *phcT* 欠失 R5 変異株及び *phcS* 欠失 R5 変異株を用いて、R5 株内での PhcT 及び PhcS のフェノール代謝系に及ぼす影響を検討している。本研究開発は、産業科学技術研究開発の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構から委託を受けて実施したものである。

Analysis of a novel transcriptional regulator for phenol hydroxylase from *Comamonas testosteroni* strain R5. ○Maki Teramoto, Shigeaki Harayama, Kazuya Watanabe (MBI, Kamaishi Lab.)

【key words】 *Comamonas testosteroni*, phenol hydroxylase, cloning, transcriptional regulator

1304 PCE 分解嫌気性細菌 DPH-1 株の無細胞抽出液による脱塩素化反応

(岐阜大・農・生物資源利用) ○張 啓吉、Benedict Okeke、

発 正浩、高見澤一裕

【目的】

テトラクロロエチレン (PCE) はトリクロロエチレン (TCE) と共に重大な地下水汚染物質であり、その効率的な分解方法が様々な観点から研究されている。そこで本研究では、汚染土壌から単離した PCE 分解細菌 *Clostridium bifermentans* DPH-1 株の無細胞抽出液による脱塩素化反応の検討を行った。

【方法と結果】

DPH-1 株の無細胞抽出液は、培養終了後、菌体を超音波破碎し、12,000×g、20 分間遠心分離した上清液を用いた。無細胞抽出液による PCE 分解はヘッドスペース GC 法で測定した。また、酵素活性は 1 unit (U) = nmoles of product (TCE + *cis*-1,2-DCE) h⁻¹ (ml enzyme)⁻¹ により計算した。電子供与体なしの条件に比べ電子供与体として エタノール、メチルピオロゲンを用いた条件で酵素活性が各々 2、3 倍高かった (1.8、2.1 U)。この反応系における PCE 分解産物は TCE、*cis*-1,2-DCE、そして微量の塩化ビニルであった。さらに、1,2-ジクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタンの分解に対しても酵素活性が確認された。

【将来の展開】

PCE 分解酵素の精製、遺伝子レベルでの分解機構の解明などを通して環境修復技術への応用を試みる。

Degradation of tetrachloroethylene by cell extracts in strain DPH-1

○Young. C. Chang, Benedict Okeke, Masahiro Hatsu, Kazuhiro Takamizawa (Dept. Bioprocess., Gifu Univ.)

【Key words】 PCE, TCE, dechlorination, bioremediation