3J10-3 通性嫌気性グラム陽性胞子形成桿菌 *Amphibacillus* 属の分類学的解析と酸素に対する挙動

○八七橋 修平¹, 新井 俊晃¹, 石川 森夫², 山里 一英²,
小泉 幸道², 川崎 信治¹, 鈴木 健一朗³, 新村 洋一¹
(¹東農大・応生科・バイオ, ²東農大・応生科・醸造,
³(独) 製評機構・バイオテクノロジー本部)

〈背景・目的〉私たちは通性嫌気性のグラム陽性胞子形成桿菌を単離し、*Amphibacillus xylanus* と命名した。本菌は呼吸鎖のみならずカタラーゼをも欠如するが、嫌気条件下好気条件下まで同等に生育する。近年、Zhilina らはケニアの塩湖からグラム陽性の胞子形成桿菌を単離し *A. fermentum*、*A. tropicus* として提唱した。そこでこれらの菌株と *A. xylanus* との分類学のおよび生理学的比較を試みた。〈方法・結果〉*A. fermentum* と *A. tropicus* は *A. xylanus* と同様にカタラーゼとキノンを欠如していた。*A. xylanus* の生育には酸素が影響を及ぼさないが、*A. fermentum* と *A. tropicus* は21%酸素存在下では生育が低下した。*A. fermentum* と *A. tropicus* の脂肪酸組成は *A. xylanus* と同様のイソ分枝鎖、アンテイソ分枝脂肪酸を主体としていたが直鎖の比率も高かった。*A. xylanus* は乳酸を生成しないが、*A. fermentum* と *A. tropicus* は乳酸を生成した。そのため、*Amphibacillus* 属と系統的に近縁な海洋性乳酸菌 *Halolactibacillus* 属を含め分類学的解析を行なっている。

Taxonomical analysis of facultative anaerobic sporeforming bacteria, a genus *Amphibacillus*

○Syuhei YANAHASHI¹, Toshiaki ARAI¹, Morjo ISHIKAWA²,
Kazuhide YAMASATO², Yukimichi KOIZUMI², Shinji KAWASAKI¹,
Ken-ichiro SUZUKI³, Youichi NIIMURA¹
(¹Dept. Biosci., Fac. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agric., ²Dept. Ferment.
Sci., Tokyo Univ. Agric., ³Dept. Biotechnology, NBRC)

Key words taxonomy, lactic acid bacteria, *Amphibacillus*, *Halolactibacillus*

3J10-5 *Clostridium* 属細菌の硫黄化合物還元とその遺伝子解析

○高橋 唯, 須藤 孝一, 井上 千弘
(東北大院・環境)

Clostridium 属細菌は多様な性質、系統を持つ細菌からなる属であり、再分類が提案されている。本研究では特性による分類の一端として、環境サンプルから得られた *Clostridium* 近縁の単離株について、硫黄化合物還元活性について検討し、さらに硫黄化合物還元に関与する遺伝子解析による系統分類を試みた。使用菌株は環境サンプルを硫黄化合物還元条件にて培養し、単離したものである。単離株の硫黄化合物還元は硫化鉄の生成により確認した。これらの単離株からDNAを抽出し、16S rDNAによる同定、および既存の硫酸還元細菌の異化的亜硫酸還元酵素 (dsr) をターゲットとするプライマーを用いたPCRを行った。単離株のうち数株は、わずかではあるものの硫酸を還元し、硫化鉄沈殿を形成させた。16S rDNA解析の結果、全ての単離株は *Clostridium* に近縁であることが判明した。また、dsr ターゲットプライマーを用いたPCRでは増幅が認められたが、同定されている dsr とはPCR増幅産物のサイズが全く異なっていた。さらに標準株として、単離株に比較的近縁な *C. puniceum*、*C. sabtoreminalis*、*C. scatologenes*、*C. thiosulfatireducens* についても同様にPCRを行ったところ、*C. sabtoreminalis*、*C. thiosulfatireducens* では泳動バンドが検出されたが、他の2種では増幅されなかった。

Sulfur compounds reduction and phylogenetic analysis of *Clostridia*

○Yui TAKAHASHI, Koichi SUTO, Chihiro INOUE
(Grad.Sch. Environ. Tohoku Univ.)

Key words clostridium, sulfur compounds reduction, PCR, dissimilatory sulfite reductase

3J10-4 新規に単離された従属栄養鉄酸化細菌 *Alicyclobacillus* sp. HIB4 の特徴

○須藤 孝一¹, 趙成珍², 井上千弘¹, 千田 信²
(¹東北大院・環境科学, ²石油天然ガス・金属鉱物資源機構・金属資源技術研究所)

【目的】旧松尾鉱山廃水処理施設酸化層水を起源とする集積培養から、好酸性従属栄養鉄酸化細菌として、*Alicyclobacillus* sp. HIB4 が単離された。これは *Alicyclobacillus* 属細菌として 3 株目の鉄酸化細菌である。本研究では、HIB4 株の特徴付けを行った。【結果及び考察】HIB4 株は、yeast extract 存在下においてのみ増殖および鉄酸化を示すものの、その鉄酸化は対数増殖期終盤において行われ、鉄酸化と増殖が結びつかない。すなわち、HIB4 株は他の多くの従属栄養鉄酸化細菌と異なり、独立栄養的には増殖しないことが示唆された。また、従属栄養的増殖において、yeast extract 以外の有機物は炭素源として利用できないことが示された。しかしながら、集積培養中において共存していた独立栄養鉄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* の培養後の溶液を用いることにより増殖することが示された。HIB4 株の 16S rDNA 解析の結果、*Al. disulfidooxidans* と 99.7% と高い相同性を示したが、生理学的特徴が大きく異なることから、別種と考えるものである。

Characteristics of newly isolated heterotrophic iron-oxidizing bacterium *Alicyclobacillus* sp. HIB4

○Koichi SUTO¹, Seon-gin Joe², Chiro Inoue¹, Tadashi Chida²
(¹Dept. Environ. Studies, Tohoku Univ., ²Metals Tecnology Center, JOGMEC)

Key words *Alicyclobacillus*, heterotrophic iron-oxidizing bacterium, isolation, characteristics

3J11-1 環境ゲノムからのバイオマグネタイト合成関連遺伝子群の分離

○新垣 篤史, 渋沢 美枝, 鈴木 健之, 田中 剛, 竹山 春子,
松永 是
(東京農工大院・生命)

【目的】磁性細菌と呼ばれる一群の細菌は、細胞内にナノサイズの磁性粒子(バイオマグネタイト)を生成する。近年の分子生物学的解析からバイオマグネタイト生成機構の概要と、その生成において重要な役割を担うタンパク質群とその遺伝子が同定されている。一方で、環境中には、人工的には合成の不可能な形態や構造を有する磁性結晶を形成することが知られており、その遺伝子を獲得することで新しい磁性材料の創製に繋がることが期待されている。本研究では環境中に存在する多様な磁性細菌群から、バイオマグネタイト合成のキーとなるタンパク質をコードする遺伝子群を獲得することを目的とした。【方法及び結果】環境中に存在する多様な磁性細菌種のゲノム情報を獲得するため、様々な水圏から磁性細菌のサンプリングを行った。得られた環境サンプルから磁性細菌のみを磁氣的誘導することで選択的に回収した。光学及び電子顕微鏡による観察から、得られたサンプル中における磁性細菌群の多様性が観察された。磁性細菌の存在の確認されたサンプルからゲノム抽出を行った。一方で、現在までに得られている磁性細菌のゲノム情報に基づいて、PCRプライマーの設計を行った。特に、genomic island と呼ばれるマグネタイト合成関連遺伝子の集中する領域に含まれる *mms5*, *mms6*, *mms7*, *mms13* をターゲットとしてPCRを行った。得られた遺伝子断片をクローニング、シーケンズを行い、遺伝子群の多様性を明らかにした。

Isolation of genes involved in biomagnetite formation from environmental genome

○Atsushi ARAKAKI, Mie SHIBUSAWA, Takeyuki SUZUKI,
Tsuyoshi TANAKA, Haruko TAKEYAMA, Tadashi MATSUNAGA
(Dept. Biotechnol., Tokyo Univ. Agric. Technol.)

Key words biomineralization, magnetosome, magnetotactic bacteria, metagenome