

3P-085 青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* の走化性センサー遺伝子の発現パターン解析

○三谷 公美恵, 奥 正太, 緋田 安希子, 田島 誉久, 中島田 豊, 加藤 純一
(広島大院・先端物質)
jun@hiroshima-u.ac.jp

【目的】青枯病菌 *Ralstonia solanacearum* はトマトやナスなど 200 種類以上の商業的に価値の高い農作物に感染、枯死させる土壌伝染性病原菌である。その被害は世界中で深刻であり、新規防除技術の開発が求められている。青枯病菌は、走化性を介して植物へ接近し感染へと至るがその詳細は不明である。走化性は走化性センサー (MCP) が物質を感知することによって生じるが、青枯病菌の感染に関わる MCP は解明されていない。また環境中で青枯病菌がもつ 22 個がどのようなバランスで発現しているかもわかっていない。本研究では環境中で強く発現する MCP が感染に重要であると予想し、遺伝子の転写量を指標に MCP の発現パターンを解析した。

【方法・結果】解析には *R. solanacearum* MAFF106611 株を用いた。まず MAFF106611 株の汚染砂を調製しトマト苗を移植した。一晚培養後、複数の地点から MAFF106611 株の RNA を抽出し、22 mcp 遺伝子の転写量を定量的 RT-PCR 法で解析した。転写解析の結果、mcp05、mcp07、mcp09、mcp14 の転写量が特に高く、また各サンプリング箇所と同様の発現挙動を示した。我々の研究により Mcp14 は植物感染に重要であることが分かっている。一方、Mcp05、Mcp07、Mcp09 の植物感染への影響は不明であるが、Mcp14 と同様に植物感染に関与している可能性がある。現在は、これらの MCP 遺伝子破壊株を構築し、MCP の機能および植物感染への影響について解析している。

studies on expression profile of chemotaxis sensor genes in *Ralstonia solanacearum*

○Kumie Mitani, shota oku, Akiko Hida, Takahisa Tajima, Yutaka Nakashimada, Junichi Kato
(Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

Key words chemotaxis, *Ralstonia solanacearum*, gene expression analysis, Methyl-accepting Chemotaxis Protein

3P-087 *Sphingobium fuliginis* OMI によるアルキルフェノール類分解機構の解析

○矢原 達也¹, Alipour Atefeh¹, 黒田 真史¹, 武尾 正弘², 池 道彦¹
(¹阪大院・工・環境エネ, ²兵庫県大院・工・物質系)
ike@see.eng.osaka-u.ac.jp

[背景と目的] ウキクサの根圏から単離されたグラム陰性細菌、*Sphingobium fuliginis* OMI は、アルキル基の炭素数が 2~9 のアルキルフェノール類 (APs) や、8 種類のビスフェノール類といった様々な芳香族化合物を分解することができ、根圏浄化法による APs 汚染の浄化プロセスへの応用が期待される。本研究では、浄化プロセスの合理的設計に向けて、OMI 株の APs 分解機構を遺伝学的に解明することを目的とし、APs 分解関連遺伝子群の探索と遺伝子破壊による機能推定を行った。

[結果] これまでの研究から、OMI 株による 4-*tert*-butylphenol (4-*t*-BP) の分解は、4-*t*-BP の水酸化および 4-*tert*-butylcatechol (4-*t*-BC) の芳香環のメタ開裂によって進むことが分かっている。OMI 株のドラフトゲノム DNA 配列に対してアノテーションを行い、芳香環のメタ開裂酵素遺伝子を探索した結果、7 つの遺伝子を見出した。それぞれの遺伝子の周辺領域を調べたところ、4 つの領域には、メタ開裂酵素遺伝子に加え、芳香環開裂前後の代謝に関わる可能性のある遺伝子が存在していた。それらの一つである *thpB* 遺伝子について、プラスミド pKD46 の Red Recombination System を用いて、破壊株を作製し、その表現型を解析した。

Molecular mechanism of alkylphenols degradation by *Sphingobium fuliginis* OMI

○Tatsuya Yahara¹, Atefeh Alipour¹, Masashi Kuroda¹, Masahiro Takeo², Michihiko Ike¹
(¹Div. Sustain. Energy Environ. Eng., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., ²Dept. Mater. Sci. Chem., Grad. Sch. Eng., Univ. Hyogo)

Key words *Sphingobium fuliginis* OMI, alkylphenol, biodegradation, gene disruption

3P-086 *Pseudomonas protegens* CHA0 のアミノ酸走化性強化の試み

○三浦 愛美, 奥 正太, 末松 真樹子, 田島 誉久, 中島田 豊, 加藤 純一
(広島大院・先端物質)
jun@hiroshima-u.ac.jp

【目的】植物生長促進根圏細菌 (PGPR) は根にコロニー形成することで植物に有益作用を示す根圏細菌である。これまでの研究から、アミノ酸走化性が根コロニー形成に重要であることが判明した。そのため PGPR である *P. protegens* CHA0 株のアミノ酸走化性を強化出来れば、より効果的な生長促進効果が期待される。本研究では、これまで走化性モデル株として解析してきた *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 株の知見を基に、*P. protegens* CHA0 株のアミノ酸走化性強化の方法について検討した。

【方法・結果】CHA0 株は、Pf0-1 株と同様に根浸出液の主要画分であるアミノ酸や有機酸に強い誘引応答を示す。BLASTP 解析から、CHA0 株は Pf0-1 株と相同な MCP を多数有しており、CHA0 株と Pf0-1 株は似た走化性機構をもつと予想された。Pf0-1 株はリンゴ酸 MCP を破壊することで一部のアミノ酸走化性が向上した。そこで、①リンゴ酸 MCP の破壊、②アミノ酸 MCP の高発現という 2 つのアプローチによって CHA0 株のアミノ酸走化性強化を試みた。Pf0-1 株のリンゴ酸 MCP と相同な MCP を解析することで、CHA0 株のリンゴ酸 MCP を特定した。現在、特定したリンゴ酸 MCP の破壊を試みている。一方、同様の解析によって CHA0 のアミノ酸 MCP を特定した。現在、アミノ酸 MCP の転写を促進することで走化性の強化を試みている。今後はこれらのアプローチによって CHA0 株の走化性強化を行い、PGPR 効果が促進されるか評価する。

Enhancement of chemotaxis to amino acids in *Pseudomonas protegens* CHA0

○Manami Miura, Shota Oku, Makiko Suematsu, Takahisa Tajima, Yutaka Nakashimada, Junichi Kato
(Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

Key words chemotaxis, *Pseudomonas*, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, Methyl-accepting Chemotaxis Protein

3P-088 放線菌 RHA1 株のビフェニル代謝に関する新規同定タンパク質の機能解析

○愛宕 祐基¹, 福田 雅夫², 原 啓文³, 二見 淳一郎¹
(¹岡山大院・自科, ²長岡技科大, ³マレーシア工科大)
p95x0vaj@s.okayama-u.ac.jp

Rhodococcus jostii RHA1 株 (RHA1 株) に存在する二成分制御系 BphS1T1 は、PCB/ ビフェニルを感知して分解酵素遺伝子を活性化する必須な転写制御因子である。PCB は研究での使用でさえも禁止されているほど有毒な物質であるが、難分解性のため現在も環境中に多く残留している。本研究ではビフェニルを炭素源とした生育が可能な RHA1 株を用いて、PCB の生分解経路の解明を目指している。これまでの研究で、ChIP-chip 法を用いて全ゲノム上での BphT1 制御下遺伝子群の同定を進めた結果、ビフェニルで高発現している遺伝子群との比較から、ビフェニル応答時に BphT1 に依存的な発現が予想される 6 つの遺伝子を特定できた。これらの遺伝子の各破壊株を作製し、ビフェニルを唯一炭素源とした最少塩液体培地での生育測定を行ったところ、1 つの遺伝子破壊株 (*ro10225* 遺伝子破壊株) のみで生育能の欠失が認められた。この結果は、既知ビフェニル代謝酵素遺伝子群以外の遺伝子がビフェニル生育に影響を示す初めての結果であり、未知の生理学変化を引き起こしていることを示唆している。そこで大腸菌を用いて発現させた組換え Ro10225 タンパク質をビフェニル培養中の *ro10225* 遺伝子破壊株に直接添加し、生育を観察した。その結果、適当な濃度の Ro10225 タンパク質を添加すると、*ro10225* 遺伝子破壊株の生育能が復帰することが明らかとなった。今後 Ro10225 タンパク質の RHA1 株における詳細な機能を解析することで、RHA1 株の PCB 分解の全容解明に繋がるのが期待される。

Functional analysis of novel protein responsible for biphenyl metabolism in *Rhodococcus jostii* RHA1.

○Yuki Atago¹, Masao Fukuda², Hirofumi Hara³, Junichiro Futami¹
(¹Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Okayama Univ., ²Nagaoka Univ. Technol., ³MJIT UTM. Malaysia)

Key words *Rhodococcus*, RHA1, ChIP-chip, BphS1T1