

03-045

F

脱窒真菌 *Fusarium oxysporum* の *nirK* 遺伝子

金 尚完、伏信 進矢、若木 高善、○祥雲 弘文

東大院農

カビ *F. oxysporum* の脱窒系構成成分として、一酸化窒素還元酵素(P450nor)、銅含有型亜硝酸還元酵素(CuNiR)、硝酸還元酵素(dNaR)、フラボヘモグロビン(FHb)などのタンパク質が精製あるいは部分精製され、characterize されている。これらのうち遺伝子の単離されたものはP450norのみである。本研究では、SSH(Suppression Subtractive Hybridization)法により脱窒条件で特異的に発現する遺伝子の取得を試みた。その結果、CuNiR 遺伝子(*nirK*)ホモログ、FHb、P450nor、その他数種の遺伝子が単離された。これらのうち *nirK* ホモログの characterization を行った。その組替え体タンパク質はNiR 活性その他のCuNiRに特徴的な性質を現した。また *F. oxysporum* からすでに精製されているタンパク質の性質とも一致した。以上のことから、SSHにより単離された *nirK* ホモログは真にCuNiRをコードする遺伝子(*nirK*)であると結論される。一方近年、多くの真核微生物のゲノム解析がなされ、それらに *nirK* ホモログの存在が明らかとなっている。系統解析の結果、*F. oxysporum* の *nirK* を含む真核生物の *nirK* ホモログはクラスターをなし、細菌間での *nirK* や *nirS*(ヘム cd1 タイプ NiR)の分布が無統一であると対照的であった。さらに細菌では *nirK* と共に広く分布する *nirS* ホモログはカビや原生動物のゲノムには発見されていない。以上より、*F. oxysporum* など真核生物の脱窒系は細菌脱窒系と同起源であることが支持される。さらに真核生物の NiR(*nirK*)は内部共生でミトコンドリアの起源となったプロトミトコンドリア由来で、真核生物誕生後は、原核生物とのNiR 遺伝子のやり取りは無かったと結論される。

ahshoun@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

03-046

F

硝酸肉エキス培地で亜硝酸を蓄積し、亜酸化窒素を生成する脱窒細菌

○永野 博彦、篠原 真希、瀬戸 昌之、多羅尾 光徳

農工大農

【目的】環境中の脱窒菌の最確数(MPN)を、硝酸肉エキス培地(有機炭素, 3900; 全窒素, 1100; 硝酸態窒素, 70; 単位は mgL⁻¹)と低濃度培地(有機炭素, 70; 全窒素, 11; 硝酸態窒素, 7)を用いて計数したとき、低濃度培地の方が高い値を示す傾向があった(中西ら,2004年)。このことは硝酸肉エキス培地では検出できないが低濃度培地では検出できる脱窒菌が環境中に存在することを示唆する。本研究では低濃度培地から脱窒菌を単離し、この単離菌の脱窒の性質について調べることを目的とした。

【方法】多摩川水中の脱窒菌をMPN法により計数した。培地は硝酸肉エキス培地と低濃度培地を用いた。低濃度培地において脱窒反応を示した試験管のうち最高希釈段階から脱窒菌を単離した。単離菌を硝酸肉エキス培地で17日間培養し、硝酸・亜硝酸・亜酸化窒素・分子窒素濃度を測定した。

【結果および考察】低濃度培地を用いたときの脱窒菌のMPNは硝酸肉エキス培地を用いたときよりも高かった。低濃度培地から単離した脱窒菌をアセチレン雰囲気下において硝酸肉エキス培地で培養したとき、61 mgNL⁻¹の硝酸を42の亜硝酸と23の亜酸化窒素に変換していた。一方、アセチレン非雰囲気下においては61の硝酸を45の亜硝酸と16の亜酸化窒素に変換していた。これらのことからこの単離菌は硝酸肉エキス培地において硝酸の7%しか分子窒素まで還元できず、残りは亜硝酸と亜酸化窒素として蓄積する可能性のあることが示唆された。現在、単離菌が硝酸肉エキス培地で亜硝酸および亜酸化窒素を蓄積する原因を調べているところである。

50007536010@st.tuat.ac.jp