

10-4

口頭発表

かび毒 Deoxynivalenol (DON)分解細菌からの DON 分解酵素遺伝子の取得と解析

○伊藤 通浩、石坂 眞澄、生長 陽子、小板橋 基夫、對馬 誠也

農環研

Key words : deoxynivalenol, mycotoxin, Fusarium head blight, biocontrol

【目的】*Fusarium graminearum* などのムギ類赤かび病菌はかび毒デオキシニバレノール(DON)を産生する。DON は穀粒に蓄積して残留し、摂取した人畜に食中毒や免疫機能の低下を引き起こす。DON 分解細菌および分解酵素・遺伝子は DON 汚染の防除・低減への活用が期待されるが、好気性 DON 分解細菌の分離例は 1 例に留まり、DON 分解酵素遺伝子の報告は皆無である。そこで本研究では我々が新たに分離した DON 分解細菌 KSM1 株から DON 初発分解酵素遺伝子を取得することを目的とした。【方法】KSM1 株ゲノムのコスミドライブラリーから DON 分解活性を示すクローンを選択し、次に選択したコスミド挿入断片の部分ごとに DON 分解活性を検討することによって、DON 分解酵素遺伝子の領域を同定した。ライブラリーの宿主菌株には、大腸菌に加え、目的遺伝子の機能発現の可能性を高めるため、系統的に KSM1 株により近縁な 2 株の *Sphingobium* 属細菌の計 3 菌株を用いた。DON 分解活性は反応液の HPLC 分析により検討した。【結果と考察】3 菌株のそれぞれを宿主とするライブラリー約 1200 クローンずつをスクリーニングし、*Sphingobium japonicum*UT26S 株を宿主として DON 分解活性を示すクローンを 2 種取得した。さらにそれぞれのコスミド挿入断片中に異なる DON 初発分解酵素遺伝子を同定した。それぞれの遺伝子を導入した UT26S 株は DON と反応して異なる DON 代謝産物を反応液中に蓄積した。以上の結果から、KSM1 株が少なくとも 2 通りの DON 初発反応経路を有していることが示唆された。

michihi@affrc.go.jp

10-5

口頭発表

活性汚泥から分離したビスフェノール A 走性細菌の応答特性

○安藤 慧、荷方 稔之、柿井 一男

宇都宮大大学院工学研究科物質環境化学専攻

Key words : bisphenol A, chemotaxis, *Stenotrophomonas maltophilia*

【はじめに】運動性細菌の多くは、特定の化学物質に対して正又は負の走性を示す。本研究は、この細菌の走化性を物質認識能力としてとらえ、その工学的な応用を目指している。我々が活性汚泥から分離したグラム陰性の桿菌である PNT1 株は、内分泌攪乱性が疑われているビスフェノール A に対して正の走性を示す。本研究では PNT1 株が有するビスフェノール A をセンシングする走化性センサー遺伝子の単離を目的とした。【結果と考察】16S rRNA 遺伝子の塩基配列から、PNT1 株は *Stenotrophomonas maltophilia* と推定された。この細菌は多剤耐性能を持つ日和見感染菌としても知られており、既に同 K279a 株において全ゲノム情報が解明されている。そこでこのゲノム情報から走化性センサータンパク質内で高度に保存されているシグナル伝達ドメイン内の保存領域をもとに、12 の走化性センサー様遺伝子を推定した。一方、ビスフェノール A に対して走性を示さない *Pseudomonas aeruginosa*PAO1 株は 26 の走化性センサー様遺伝子を有している。そこで両者のリガンド結合ドメインについて相同性を比較することにより、PNT1 株だけに存在すると推定される 3 つの走化性センサー様遺伝子を選別した。これらの遺伝子はビスフェノール A をセンシングする走化性センサーをコードしている可能性が高い。現在、これらの遺伝子を *P. aeruginosa*PAO1 株に導入、発現させることにより、その走化性を調査することでビスフェノール A をセンシングする走化性センサー遺伝子の単離を試みている。

mt096304@cc.utsunomiya-u.ac.jp