

## P16-15

## 海洋性エタン資化性菌の諸性質とその初発酸化酵素遺伝子

○朝重 翔<sup>1</sup>、鈴木 敏弘<sup>2</sup>、羽部 浩<sup>3</sup>、布施 博之<sup>4</sup><sup>1</sup>芝浦工大・院・シス理工、<sup>2</sup>筑波大・生環系、<sup>3</sup>産総研、<sup>4</sup>芝浦工大・シス理工

メタン資化性菌のMMO(Methane Monooxygenase)には銅濃度が限られた条件下で発現するsMMO型と銅を活性中心とするpMMO型が知られている。海洋性エタン資化性菌ET-HIRO株、ET-SHO株は2つのpMMO型の遺伝子を有し、16S rRNAの系統解析からは、メタン資化性菌以外報告のないMethylococcaceae科に属することが見出されている。ただ、その2つのpMMO遺伝子については、エタン酸化との関係が明確にされていない。そこで、基質等の条件変化によるそれら遺伝子の発現と、培地中銅濃度と基質の条件変化による生育試験から当菌株のpMMO類似酵素とエタン酸化の関係を明らかにすることを目的とした。エタン、エタノール、酢酸ナトリウムを基質として両菌株を生育させRT-PCR法による転写解析を行ったところ、全ての基質でpmo cluster IIの発現が確認された。また、ET-HIRO株を短鎖アルカンとその他の基質で生育させ同様に転写解析を行ったところ、全ての基質でpmo cluster IIの発現が確認された。また、全ての基質でpmo cluster Iの発現は確認できなかった。この結果から、pmo cluster Iはこれら基質の酸化には関与していないことが示唆された。ET-HIRO株の培地中銅濃度と基質の条件変化による生育試験では、エタンとイソブタンの基質で銅濃度が低いと生育が阻害され、ピルピン酸では濃度に依存なく生育することがわかった。この結果から、ET-HIRO株のpmo cluster IIは構成的に発現しており、アルカン酸化に関与していることが示唆された。

## P16-16

2,4,6-トリクロロフェノール分解菌*Ralstonia pickettii* DTP0602株の3つの3-オキソアジピン酸分解遺伝子の解析○八田 貴<sup>1</sup>、須崎 大介<sup>1</sup>、畢 貞<sup>1</sup><sup>1</sup>岡山理科大・工

【目的】 *Ralstonia pickettii* DTP0602株は2,4,6-トリクロロフェノール (2,4,6-TCP) を完全分解するが、3-オキソアジピン酸 (3-OAA) を経てTCAサイクルへ代謝することが分かっている。*R. pickettii* DTP0602のゲノム解析の結果から、ゲノムの3ヶ所に3-OAAを代謝する遺伝子 (*hadEF*) が存在していることが明らかとなっている。今回の研究ではこれら3遺伝子が主に何の分解に関与している遺伝子なのかを各破壊株を用いて予想した。

【方法・結果】 *R. pickettii* DTP0602の目的で述べた各遺伝子の破壊はpK18mobSacBを用い、抗生物質耐性遺伝子を挿入することによって取得した。これらの破壊株を芳香族化合物の資化性を調べてみたところ、2,4,6-TCPはプラスミド上に存在する*hadE3F3*の関与が予想された。一方、染色体1, 2に存在する*hadE1F1*、*hadE2F2*も別の芳香族化合物の分解に関わっていることが予想された。2,4,6-TCP分解遺伝子*hadRXABC*、*hadSYD* *hadEF*が染色体2の比較的近い位置に存在していたが、その位置関係が分解性と関係しないことが予想された。