

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		有機塩素系農薬長期連用土壌からの脱塩素遺伝子群の取得と脱塩素酵素の性能評価			
研究テーマ (欧文) AZ		Isolation of dehalinating genes and enzymes from long-term experimental field soil after multiple application of organochlorine pesticides			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)セノオ	名)ケイシ	研究期間 B	2003 ~ 2004 年
	漢字 CB	妹尾	啓史	報告年度 YR	2005 年
	ローマ字 CZ	Senoo	Keishi	研究機関名	東京大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東京大学大学院農学生命科学研究科教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>現在、各種の塩素系化合物による環境汚染・土壌汚染が問題になっており、微生物を用いた浄化が試みられつつある。微生物による塩素系化合物の分解において最も困難であり、鍵となるのは脱塩素反応である。本研究では有機塩素系農薬を 30 年もの長期間連用した土壌から脱塩素酵素遺伝子を幅広く収集することを目的として行った。</p> <p>まずこの土壌から有機塩素系殺虫剤 γ-HCH (γ-hexachlorocyclohexane) 分解菌を幅広く単離することを試み、γ-HCH を炭素源として利用できる分解菌 5 株 (SS04-1, 2, 3, 4, 5 株) を得た。16S rDNA 塩基配列を決定したところ、これらはいずれも <i>Sphingomonas</i> sp. と同定された。16S-23S ITS 領域の塩基配列からはこれらは遺伝的に異なる 2 グループから成ることを見出した。</p> <p>γ-HCH 分解菌 5 株と以前に単離されていた SS86 株について、既知の γ-HCH 分解系遺伝子群 <i>linA</i>, <i>linB</i>, <i>linC</i>, <i>linD</i>, <i>linE</i> のタンパク質コード領域を PCR 増幅し、塩基配列を決定した。<i>linC</i>, <i>linD</i>, <i>linE</i> に関しては全ての株で 100% の相同性を示した。<i>linA</i> に関しては SS04-4 株が 1 塩基の相違を示したものの、その他の株ではすべて相同であった。<i>linB</i> では、742 塩基中 8 塩基の部分で相違が見られた。SS04-4 株と SS86 株は 100% の相同性を示し、これら 2 株と残りの SS04-1, 2, 3, 5 株との相同性は 99.1～99.6% であった。</p> <p>さらに各株の <i>linB</i> 周辺の塩基配列を決定したところ、<i>linB</i> の前後に挿入配列 IS6100 が存在し、<i>linB</i> と IS6100 の間の配列にも多様性が見出された。</p> <p>これらの知見は、γ-HCH 分解菌が誕生した、ならびに多様化したプロセスを知る為の手掛かりになると考えられた。</p>					
キーワード FA	γ -HCH	<i>Sphingomonas</i> sp.	土壌	分解微生物	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

This study was conducted to isolate dechlorinating enzymes genes, which is key genes in bioremediation process of soils polluted with organochlorine compounds, from long-term experimental field soil after multiple application of organochlorine pesticides.

Five strains of γ -HCH-decomposing bacteria (SS04-1, 2, 3, 4, 5) which utilize γ -HCH as a sole carbon and energy source were isolated from the long-term experimental field soil. Those strains were identified as *Sphingomonas* sp. by sequencing of 16S rDNA. Sequencing of 16S-23S ITS region revealed that those strains were composed of two genetically different groups.

Presence of known γ -HCH decomposing enzyme genes (*linA*, *linB*, *linC*, *linD*, *linE*) were analyzed for those five strains together with strain SS86, which was previously isolated as γ -HCH decomposer from the soil. Sequence of *linC*, *linD* and *linE* were 100% identical among those six strains. Sequence of *linA* was also 100% identical except for SS04-4. By contrast, identity of *linB* was relatively low compared with other *lin* genes. In addition, *linB* of those strains were flanked with *IS6100* sequence.

Those finding will be very important clue to reveal the process how the γ -HCH decomposes appeared in the soil after multiple application of γ -HCH.