

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

令和 元 年 5 月 1 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 京都先端科学大学・バイオ環境学部  
 職 名 講師  
 研究代表者名 櫻間晴子

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:301007)

1. 共同利用研究 課題名	ポリ塩化ビフェニル汚染土壌の診断方法の開発			
2. 共同利用研究 目的	ポリ塩化ビフェニル類(PCB)は著名な有機塩素系の環境汚染物質であり、その廃絶が求められている。本研究では、「自然浄化力」を活用するために、実際の PCB 汚染土壌から分解微生物を探索し評価することで、土壌微生物の PCB 分解能力を評価できる「土壌診断方法」を開発することを目的とする。			
3. 共同利用研究 期間	平成 30 年 4 月 1 日 ~ 平成 31 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 櫻間晴子	京都先端科学大学 (旧校名:京都学園大学)	講師		
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル分子応答研究 部門・環境物質応答研究 分野	氏 名	乾秀之

※ 次の6~9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6~9の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:301007)

## 6. 共同利用研究計画

PCB 汚染土壌(28 箇所)を用いて、集積培養により PCB 分解菌を取得し、その PCB 分解能力を測定する。さらに、PCB 汚染土壌から DNA を抽出し、分解に寄与すると想定した微生物や酵素の検出を検討する。さらに、これらの知見を基に PCB 汚染土壌の「自然浄化力」を評価し、実際の汚染土壌の PCB 分解能力と一致するかについて検証を行う。詳細は下記に示す。

### (1)集積培養による PCB 分解微生物の探索

単一炭素源として、共代謝されるビフェニルを使用する。さらに、多様な芳香環水酸化酵素を有する微生物の取得を目的に、フェナントレンも使用する。これらの単一炭素源を含む無機塩培地に、PCB 汚染土壌を添加し培養する。3 回程度継代培養した後、プレート培養にて単離する。

### (2)有望な PCB 分解微生物の酵素同定

取得した菌株からゲノムを取得し、既存のビフェニルジオキシゲナーゼプライマーを用いて PCB 分解に寄与する芳香環水酸化酵素遺伝子を同定を試みる。

### (3)土壌 DNA に基づく PCB 分解微生物の検出

PCB 汚染土壌サンプルから抽出した DNA を鋳型として、3 種類の PCB 脱塩素化菌 (*Dehalococcoides* 属とその近縁種、*Dehalobacter* 属、および *Desulfitobacterium* 属)の検出を試みる。

### (4)PCB 分解活性の測定

市販の PCB 標品(KC-300 など)を含む無機塩培地に、PCB 汚染土壌サンプルや(1)で得た分解微生物を添加し数週間反応させた後、残存 PCB 量をガスクロマトグラフ質量分析計により分析することで、複数の同属体の分解を一度に評価する。

## 7. 共同利用研究の成果

### (1) PCB 土壌を単離源としたビフェニル分解菌の取得

河川底質土から 3 種類(*Bacillus* 属 2 種、*Psychrobacillus* 属 1 種)を、内湾の底質土壌湾から 4 種類(*Paenibacillus* 属 2 種、*Rhodococcus* 属 1 種、*Staphylococcus* 属 1 種)のビフェニル分解菌の単離に成功した。さらに、これらの菌のうち、5 株は PCB 分解活性を示した。また、これらの菌は、既存のビフェニルジオキシゲナーゼを対象としたプライマーでは同定できなかったことから、新規のビフェニル分解菌として期待される。

### (2) PCB 土壌を単離源としたフェナントレン分解菌の取得

河川底質土から 1 種類(*Bacillus* 属)、投棄場跡地から 3 種類(*Pseudomonas* 属 1 種、*Serratia* 属 1 種、未同定 1 種)のフェナントレン分解菌を得た。これらの菌のうち 1 株は、母核であるビフェニルに対して活性を示さなかったが、PCB に対して活性を示した。

### (3) 汚染土壌由来の環境 DNA を利用した土壌解析

PCB 汚染土壌 19 箇所について解析した結果、どの土壌からも嫌気性の PCB 脱塩素化菌が検出された。嫌気性の PCB 脱塩素化菌に棲息する可能性が遺伝子レベルで示唆された。

## 8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

日本農芸化学会 2019 年大会(東京)3 月 24 日

題:ポリ塩化ビフェニル類汚染化による土壌微生物生態系への影響評価

(The effects of polychlorinated biphenyls on the soil bacterial community structure)

○櫻間 晴子(発表者)、比良岡 祐希、山下 舞、澤 誠人、羽賀 雄紀、松村千里、乾 秀之、中野 武 萩下大郎

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

該当なし。