

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

平成31年4月 12 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 兵庫県環境研究センター・水環境科
職 名 主任研究員
研究代表者名 羽賀 雄紀

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:282003)

1. 共同利用研究 課題名	環境汚染物質の体内動態と環境動態の解明			
2. 共同利用研究 目的	環境汚染物質、特にポリ塩化ビフェニル(PCB)と有機フッ素化合物(PFC)の生体内、環境における代謝経路並びに毒性発現・解毒メカニズムを解明する。			
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) 羽賀 雄紀	兵庫県環境研究センター	主任研究員	PCB 代謝物分析	
(分担研究者) 吉識 亮介 松村 千里	兵庫県環境研究センター 兵庫県環境研究センター	研究員 主席研究員	PFC 定量分析 PCB・PFC 分析業務の統括	
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:282003)

6. 共同利用研究計画

1) 哺乳類 P450 によるキラル PCB の代謝 (担当: 神戸大・乾)

哺乳類 P450 遺伝子を酵母発現プラスミドに挿入し、組換え酵母において P450 遺伝子を発現させる。超遠心分離機を用いて調製したマイクロソーム画分 (P450 が含まれる) と鏡像異性体の毒性が不明なキラル PCB (CB45、CB91、CB135、CB183 など) を反応させる。

2) P450 によるキラル PCB の代謝活性の測定と代謝物の同定 (担当: 環境研・羽賀、松村)

反応液からキラル PCB 代謝物を抽出後、GC/MS による分析のために代謝物の誘導体化を行い、高分解能 GC/MS により代謝物の定量・同定を行う。同定した代謝物情報を基に、キラル PCB の代謝経路を推定する。

3) PFC 分解微生物のスクリーニング (担当: 神戸大・乾)

PFC 長期汚染河川底質から単離した細菌について、16S リボゾーム RNA 遺伝子の配列を解析することにより微生物を同定する。同定した菌を PFOS・PFOA 添加液体培地で培養し、培地中に残存する PFOS・PFOA を定量し、分解菌の可能性を検討する。

4) PFC 濃度の測定 (担当: 環境研・吉識、松村)

培地中の PFOS・PFOA の分解 (減少) を確認するために、PFC 測定用前処理カラムを用いて培養液から PFC を濃縮・精製する。PFC 含有サンプルを高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) に供し、PFC 濃度を定量する。

7. 共同利用研究の成果

1) 哺乳類由来 P450 と細菌由来 P450 による PCB の代謝

ヒトとラットの P450 はキラル PCB (CB45、CB91、CB183) のアトロプ異性体を水酸化代謝物に代謝したが、その活性はアトロプ異性体間で大きく異なっていた。一部の水酸化代謝物の構造を同定した。一方、細菌由来 P450 は CB118 を水酸化代謝物に代謝したが、その活性にはデコイ分子としてペルフルオロアルキルカルボン酸の存在が必要であった。さらに、細菌 P450 の変異体を各種作製し、CB118 の代謝活性を比較したところ、野生型の P450 よりも活性が高くなったり、デコイ分子がなくても活性の高い変異体が得られた。

2) PFC 分解微生物の単離と PFC 濃度の低下

PFOS の濃度を 50% 程度低下させる細菌を PFC 長期汚染河川底質から単離することができた。これら細菌について、16S リボゾーム DNA の解析により、菌種を同定した。

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。)

- Goto, E., Haga, Y., Kubo, M., Itoh, T., Kasai, C., Shoji, O., Yamamoto, K., Matsumura, C., Nakano, T., Inui, H., Metabolic enhancement of 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB118) using cytochrome P450 monooxygenase isolated from soil bacterium under the presence of perfluorocarboxylic acids (PFCAs) and the structural basis of its metabolism, *Chemosphere*, 210, 376-383, 2018
- Inui, H., Goto, E., Haga, Y., Kubo, M., Itoh, T., Kasai, C., Shoji, O., Yamamoto, K., Matsumura, C., Nakano, T., Enhanced metabolism of 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB118) by bacterial cytochrome P450 monooxygenase mutants, 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Kraków, Poland, 2018(8), Poster presentation
- Nakano, T., Inui, H., Environmental behavior of PCBs and its enantioselective toxicity, Pure and Applied Chemistry International Conference 2019, Bangkok, Thailand, 2019(2)

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。

特になし