

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

2020年 4月 26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2019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、昨年引き続き、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	2019年7月1日 ~ 2020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	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

本研究では土壤微生物のPCB分解能力を評価できる「土壤診断方法」の開発を目指すために、バイオマーカーになり得る微生物や酵素を探索する。昨年度の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をさらに発展させて、引き続き、PCB汚染土壌を用いて、集積培養によりPCB分解に関与する分解菌の取得を目指す。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。

## 7. 共同利用研究の成果

### (1) PCB汚染土壌を単離源とした $\alpha$ -クロロ安息香酸分解菌の取得

PCBの代謝産物である $\alpha$ -クロロ安息香酸を単一炭素源としてスクリーニングを行った結果、元廃棄場所から*Paraburkholderia*属と94%の相同性を有する $\alpha$ -クロロ安息香酸分解菌(TM18D株)を取得した。TM18D株の分解特性について解析した結果、TM18D株は、母核である安息香酸を $\alpha$ -クロロ安息香酸よりも速く分解したことから、PCBを共代謝する「ビフェニル代謝経路」の下流経路を持っていることが示唆された。一方で、他のクロロ安息香酸に対しては分解活性を検出することができなかったことから、TM18D株は基質特異性が高い菌株である可能性が示された。さらに、TM18D株はPCBの母核であるビフェニルに対して安息香酸と同程度の速さで分解したことから、「ビフェニル代謝経路」の上流経路を持っていることが示唆された。しかし、PCBに対してははっきりとした活性を検出することはできなかった。また、TM18D株は、多種類の芳香環水酸化酵素を対象としたプライマーでPCRを行ったが検出できなかったことから、新規の安息香酸/ $\alpha$ -クロロ安息香酸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

これまでに報告されている好気性の高塩素化PCB分解菌は、ビフェニルだけでなく多環芳香族化合物を分解することが報告されている。そこで、ナフタレンを単一炭素源としてスクリーニングを行った結果、河川底質土から*Lysinibacillus*属と99%の相同性を有するナフタレン分解菌(DY18-3株)を取得した。DY18-3株はナフタレンを5日間で完全に分解したがPCBの母核であるビフェニルに対して活性を示さなかったことから、DY18-3株はビフェニル代謝経路の上流経路を持っていない可能性が高いことが示唆された。

### (3) 汚染土壌由来の環境DNAを利用した土壌解析

(1)の菌株を取得した元廃棄場所と、PCBを含む汚染物質が検出されている湾について3種類の嫌気性PCB脱塩素化細菌を調査した。結果、この3種類のうち、*Dehalogenimonas*属と*Dehalobacter*属が検出され、これらの菌株がPCBの脱塩素化に寄与する可能性が高いことを示した。さらに、昨年度解析した高濃度汚染サンプルについて、リアルタイムPCRを用いて*Dehalobacter*属由来の16SrDNAの数を比較した結果、PCB濃度に依存して*Dehalobacter*属由来の16SrDNAの数が増加したことから、*Dehalobacter*属は高濃度で働く可能性が示唆された(下記学会発表)

## 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。)

【国際学会】○Sakurama H<sup>1</sup>, Sawa M<sup>1</sup>, Haga Y<sup>2</sup>, Matsumura C<sup>2</sup>, Inui H<sup>3</sup>, Nakano T<sup>4</sup>, Hagishita T<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Kyoto Univ. of Adv. Sci., <sup>2</sup>Hyogo Pref. Inst. of Env. Sci., <sup>3</sup>Kobe Univ., <sup>4</sup>Osaka Univ.)

「SURVEY OF THE BACTERIAL COMMUNITY IN POLYCHLORINATED BIPHENYL-POLLUTED ENVIRONMENT」

第39回ダイオキシン&POPS国際会議(京都)2019年8月

【国内学会】○ 櫻間晴子<sup>1</sup>, 澤誠人<sup>1</sup>, 羽賀雄紀<sup>2</sup>, 松村千里<sup>2</sup>, 乾秀之<sup>3</sup>, 中野武<sup>4</sup>, 萩下大郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>京大先端大・バイオ環境, <sup>2</sup>兵庫県環境研セ, <sup>3</sup>神戸大バイオ, <sup>4</sup>大阪大環境安全研究管理セ)

「ポリ塩化ビフェニル汚染と土壤微生物の関連性の解析」

日本農芸化学会 関西・中部支部 2019年度合同神戸大会(神戸)2019年9月

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