

令和元年6月8日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04953

研究課題名(和文) ビフェニル/PCB分解細菌によるリグニン分解生成物からの有用芳香族化合物生産

研究課題名(英文) Production of useful aromatic compounds from lignin-derived aromatic compounds using biphenyl/PCB-degrading bacteria

研究代表者

渡邊 崇人 (WATANABE, Takahito)

京都大学・生存圏研究所・助教

研究者番号：30362403

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：リグニンの無機化には多種多様な微生物が重要な役割を果たしている。これまで我々は、ビフェニル/PCB分解細菌を土壌中から単離し、遺伝・生化学的研究及びゲノム解析を行ってきた。今回、これらのビフェニル/PCB分解細菌の数株がリグニン由来の芳香族化合物を資化できることが分かった。また、二次元電気泳動をベースとしたプロテオミクスの手法により、誘導発現している芳香族化合物の分解・代謝に関わる酵素を効率良くビフェニル/PCB分解細菌から単離・同定できるようになった。これらの結果は、ビフェニル/PCB分解細菌の育種を通じて木質バイオマスからの有用な芳香族化合物生産に繋げることができる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、難分解性芳香族化合物の分解系を有する環境汚染物質分解細菌(ビフェニル/PCB分解細菌)を用いてリグニンやその分解生成物から有用な芳香族化合物生産の基盤構築を目指した。今回は、ビフェニル/PCB分解細菌のゲノム情報等を最大限に活用しつつ、プロテオミクスの手法も駆使し、有用な芳香族化合物生産のための酵素や遺伝子をスクリーニングすることができた。これらの成果は、「分解菌を生産菌に変える」という菌の育種を通じて新たな芳香族化合物の分解代謝系の構築に繋がる。さらには、リグニン由来の芳香族化合物の機能性バイオマテリアルの開発や新しいリグニンビジネスの創出への一助となる。

研究成果の概要(英文)：A variety of microorganisms play a significant role in the mineralization of plant lignin. We have isolated a number of biphenyl/PCB-degrading bacteria from various environmental samples and studied the degradation modes from the biochemical and genetic bases. In this study, we found that some biphenyl/PCB-degrading bacteria can grow well on lignin-derived aromatic compounds as the sole sources of carbon and energy. Using gel-based proteomics, we found that many proteins responsible for the metabolism of aromatic compounds are inducibly expressed in a *Pseudomonas* strain. We also cloned the lignin peroxidase genes from a *Rhodococcus* strain and expressed them. The results show that using proteomic and genomic approaches, we can efficiently screen and identify candidate proteins and genes involved in the metabolism of lignin-derived aromatic compounds from biphenyl/PCB-degrading bacteria. These approaches can also lead to the production of useful aromatic compounds from wood biomass.

研究分野：応用微生物学

キーワード：リグニン ビフェニル PCB プロテオミクス ゲノミクス

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

自然界から供給される芳香族化合物の多くは植物リグニン由来である。リグニンは木材の構成成分の約 3 割を占め、不定形の天然の難分解性芳香族化合物である。しかしながら、リグニンを唯一無機化できるリグニン分解性担子菌（白色腐朽菌）によりリグニンが部分的に分解されるとその分解物である芳香族化合物（リグニン分解生成物）の多くは土壤中に供給される。土壤中には、リグニン分解生成物を利用して増殖する主に *Pseudomonas* 属を始めとする細菌（バクテリア）が数多く存在する。これらは、リグニンの末端分解に直接関与していることから末端リグニン分解細菌と呼ぶことができる。

リグニン分解性担子菌は、菌体外酵素であるリグニン分解酵素等によりラジカル反応を介して不定形のリグニンを非特異的に分解する。その結果として生成するリグニン分解生成物は、次に、菌体内の芳香族化合物分解酵素系を活性化し、酵素反応を介して特異的に分解され、最終的に無機化される。ところが、リグニン分解生成物の内、芳香環が 1~2 個の化合物（リグニンモノマー・ダイマー）については、細菌も細胞内に取り込み、酵素特異的に分解が可能である。また、リグニンモノマー・ダイマーの分解については、リグニン分解性担子菌よりも末端リグニン分解細菌の方が圧倒的に分解速度が早く、結果として、自然界におけるリグニンの生分解の加速化を促進していると考えられる。

一方、元々自然界には存在していなかった環境汚染物質（その多くは人工の難分解性塩素置換芳香族化合物）を分解する微生物の分解経路は、微生物の環境適応・進化の研究材料として注目されてきた。申請者もこれまで深刻な環境汚染物質の一つでビフェニル/ポリ塩化ビフェニル (PCB) の分解細菌の遺伝・生化学的研究を行い、また、近年、*Pseudomonas* 属や *Rhodococcus* 属細菌を始めとする 12 菌株のビフェニル/PCB 分解細菌のゲノム解析も行ってきた。これらの解析結果等を基に適応・進化の観点から考えると、ビフェニル/PCB 分解細菌等の環境汚染物質分解細菌は、末端リグニン分解細菌の一種であり、また、その環境汚染物質分解系は、突然無から生じたのではなく、末端リグニン分解細菌が既に持っていた天然の（植物リグニン由来の）芳香族化合物分解系のコンポーネント（遺伝子）を雛形として進化してきた新規な分解系と言える。新規な分解系ということは、逆に代謝工学的改変により芳香族化合物の新規な生産（合成）系になり得る可能性を秘めていると申請者らは考えた。

### 2. 研究の目的

前述の背景の下、環境汚染物質分解細菌（ビフェニル/PCB 分解細菌）を新規な分解代謝系を有する末端リグニン分解細菌の一種として考え、これまでの解析で得られた膨大なゲノム情報を最大限活用しつつ、木質バイオマス由来のリグニンやその分解生成物から有用な芳香族化合物の生産の基盤構築を目指す。そこで、本研究課題としては、「(1) ビフェニル/PCB 分解細菌のゲノム情報の精査及び芳香族化合物分解代謝系遺伝子の探索；(2) ビフェニル/PCB 分解細菌の各種芳香族化合物の分解・資化性試験；(3) プロテオミクスによる芳香族化合物添加時の誘導発現タンパク質の同定；(4) リグニン分解生成物からの有用芳香族化合物生産を目指した生産菌の育種」を具体的な目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 主に北九州のビフェニル汚染土壌より単離されたビフェニル/PCB 分解細菌のゲノム情報を遺伝子解析ソフトウェアやツールを用いて精査した。特に、細菌ゲノムの場合、宿主にとって有益となる芳香族化合物分解代謝系遺伝子は、ゲノミックアイランドと呼ばれる可動性領域に存在することが多いことから、染色体の他の部分とは異なる DNA 配列の統計的性質（GC 含量、GC skew、コドンの使用頻度等）を考慮した。また、芳香族化合物分解代謝系遺伝子はクラスタ構造（オペロン）を取っていることが多く、さらに、各遺伝子の機能は分解する芳香族化合物の構造が異なっても配列の相同性が高いことも考慮した。一方、リグニンの構造に多く見られる  $\beta$ -アリル型エーテル結合の開裂に関与する酵素遺伝子及び植物細胞壁の多糖とリグニンとの結合を開裂する遺伝子については、既に同定されている遺伝子配列を用いて相同性検索等によりスクリーニングを行った。なお、ゲノムを精査したビフェニル/PCB 分解細菌は以下の通りである：*Pseudomonas abietaniphila* KF701; *Pseudomonas aeruginosa* KF702; *Pseudomonas putida* KF703; *Pseudomonas furukawaii* KF707; *Cupriavidus basilensis* KF708; *Cupriavidus pauculus* KF709; *Pseudomonas toyotomiensis* KF710; *Comamonas testosteroni* KF712; *Pseudomonas putida* KF715; *Pseudomonas stutzeri* KF716; *Pseudomonas abietaniphila* KF717; *Rhodococcus wratislaviensis* T301。

(2) ゲノムを解読した 12 種類のビフェニル/PCB 分解細菌において、無機塩液体培地 (BSM 培地) に各種芳香族化合物を終濃度 0.2% (w/v) で唯一の炭素源としてそれぞれ添加し、温度 28°C で 24 時間から 120 時間振とう培養することで生育（資化）の有無を調べた。なお、今回用いた各種芳香族化合物は以下の通りである。ビフェニル、安息香酸、サリチル酸、バニリン、バニリン酸、シリンガルデヒド、シリンガ酸、プロトカテク酸、フェルラ酸、シナピン酸、*p*-クマル酸、*p*-ヒドロキシベンズアルデヒド、没食子酸、グアイアシルグリセロール- $\beta$ -グアイアシルエーテル、6,6'-ジヒドロキシ-5,5'-ジメトキシビフェニル-3,3'-ジカルボン酸。

(3) ビフェニルを始めとする各種芳香族化合物を唯一の炭素源として加えた BSM 培地とコハク酸のみを炭素源として加えた BSM 培地を調製し、ビフェニル/PCB 分解細菌を対数増殖期

後期から定常期まで温度 28°C で振とう培養した(ただし,用いる菌株の生育や添加する芳香族化合物によって培養時間は変更した).培養後,菌体を回収し,二次元電気泳動の等電点電気泳動(一次元目)で用いる Immobiline DryStrip (GE ヘルスケア)の膨潤バッファーを添加して菌体を懸濁した.その後,トリクロロ酢酸・アセトン沈殿によってタンパク質を精製し,精製したタンパク質を膨潤バッファーで溶解後,Immobiline DryStrip を膨潤した.その膨潤した Immobiline DryStrip を用いて等電点電気泳動を行い,還元・アルキル化後,通常の SDS-PAGE (二次元目)を行った.

今回,二次元電気泳動法においては,菌体外多糖に覆われた白色腐朽菌の菌体内タンパク質を用いて開発していた蛍光ディファレンスゲル二次元電気泳動法をビフェニル/PCB 分解細菌用に最適化した.本方法については,ビフェニル/PCB 分解細菌を芳香族化合物添加条件(BSM 培地に炭素源として芳香族化合物を添加した場合)と非添加条件(BSM 培地にコハク酸のみを炭素源として添加した場合)でそれぞれ培養し,タンパク質を精製後,タンパク質ラベル化剤(蛍光色素)IC3-OSu 及び IC5-OSu (同仁化学研究所)を用いてそれぞれ標識した.標識後は,それぞれに標識した二種類のタンパク質を等量ずつ混合して二次元電気泳動を行った.泳動後,蛍光イメージアナライザーを用いて,使用した 2 種類の蛍光色素のそれぞれの蛍光波長でゲルイメージを異なる色で取得した.これらの取得したゲルイメージを重ね合わせることで発現量の変化を確認した.

蛍光ディファレンスゲル二次元電気泳動後,添加した芳香族化合物によって誘導される,或いは,抑制されるタンパク質のスポットを切り出し,トリプシンによるゲル内消化を行った.得られたペプチドを脱塩,乾燥し,マトリックスと混合して MALDI-TO-MS による測定を行った.得られた測定データについては,既に申請者で構築済のタンパク質のデータベースを用いて Mascot 解析を行い,タンパク質の同定を行った (Peptide Mass Fingerprinting).

(4) ゲノム情報の精査や二次元電気泳動をベースにしたプロテオミクスによって見出された酵素遺伝子の内,芳香族化合物分解代謝系の候補遺伝子については,機能解析のために PCR で増幅後,大腸菌,或いは,*Rhodococcus* 属細菌の宿主・ベクター系を用いて異種発現を行った.なお,PCR で用いるプライマーについては,発現産物の N 末端側, C 末端側,或いは,その両端にヒスチジンタグが付加するようにデザインした.また,発現の有無については,SDS-PAGE にて確認し,可溶化発現したものについては,市販の精製キットによって精製した.精製後,脱塩,透析を行い,さらに,タンパク質の定量を行った.酵素の活性測定は,例えば,色素脱色型ペルオキシダーゼにおいては,基質として 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 及び過酸化水素を用い,吸光度 420 nm の変化を測定する等既報の方法に従って行った [Rahmanpour *et al. Arch. Biochem. Biophys.* **594**, 54-60 (2016)].

#### 4. 研究成果

(1) 申請者らが本研究課題を遂行する以前に解析を終えた 12 菌株のビフェニル/PCB 分解細菌のゲノム情報については,既にアノテーション作業が終了し,RAST server にアップロードされている [Aziz *et al., BMC Genomics* **9**, 75 (2008)].今回,これらのゲノム配列情報について主に芳香族化合物分解代謝系遺伝子のスクリーニングを目的に精査した.その結果,ビフェニル/PCB の他,サリチル酸,安息香酸,フェノール等の芳香族化合物を分解する酵素遺伝子を多数有していた.菌株によっては,推定されるものも含めて 300 個近い芳香族化合物分解代謝系遺伝子を有する株も存在した.その中には,*Sphingobium* sp. SYK-6 株で報告されているリグニンの構造に多く見られる  $\beta$ -aryl ether 型結合の開裂に関与する酵素遺伝子 [Masai *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**, 1-15 (2007)] と相同性な遺伝子も複数個存在した.さらに,強力な PCB 分解細菌 *R. jostii* RHA1 株で発見され,細菌由来のリグニンペルオキシダーゼと報告された色素脱色型ペルオキシダーゼ [Ahmad *et al., Biochemistry* **50**, 5096-107 (2011)] と相同性の高い遺伝子が *R. wratislaviensis* T301 に 3 個存在していることが分かった.一方,植物細胞壁多糖とリグニンの結合を開裂する酵素遺伝子のスクリーニングを行った結果,候補となり得る遺伝子が 7 個存在した.しかしながら,これらの遺伝子の内,開始コドンがバリンで始まるものや欠失していると思われる遺伝子があり,ビフェニル/PCB 分解細菌では発現していない可能性が示唆された.

(2) ビフェニル/PCB 分解細菌を始め,難分解性の芳香族化合物分解細菌は,元々は,自然界に存在するリグニン由来の芳香族化合物の分解に関与している末端リグニン分解細菌の一種と考えられる.そこで,ゲノムを解読した 12 種類のビフェニル/PCB 分解細菌がリグニン由来の芳香族化合物を含む 15 種類の芳香族化合物を資化するかを調べた.その結果,*P. putida* KF703 株と *P. putida* KF715 株が数多くの芳香族化合物を資化できることが分かった.また, KF703 株及び KF715 株は,これらの芳香族化合物の資化能に加え,生育速度も他の菌株より速かったことから,今後,育種すべき菌株(宿主)として有用と思われる.さらに,今回用いたビフェニル/PCB 分解細菌 12 菌株は,当然,ビフェニルを資化・分解できるが,同じくビフェニル環を有する 6,6'-ジハイドロキシ-5,5'-ジメトキシビフェニル-3,3'-ジカルボン酸については,*P. putida* KF703 株と *R. wratislaviensis* T301 のみが生育・資化した.このことは,既知のビフェニル/PCB 分解経路とは別の経路で分解・資化している可能性が強く示唆された.一方,今回,リグニンダイマーモデルとしてグアイアシルグリセロール- $\beta$ -グアイアシルエーテルを用いたが,*Sphingobium* sp. SYK-6 株のようにこれを資化できる菌株は今回確認できなかった.

(3) ゲノム配列より芳香族化合物分解代謝系遺伝子であると推定できても実際発現しているのか、または、芳香族化合物の添加によって誘導発現しているのかは分からない。さらに、芳香族化合物の添加によって芳香族化合物分解代謝系酵素以外にも直接的、或いは、間接的に芳香族化合物の分解代謝に関与しているタンパク質（酵素）もあるかもしれない。そこで、これらを調べるために蛍光ディファレンスゲル二次元電気泳動法を行い、タンパク質の発現プロファイルの取得を試みた。今回、添加した芳香族化合物によって発現が誘導、或いは、抑制されるタンパク質をゲルイメージ上で色分けすることで視覚的に捉えることができた。また、興味のあるタンパク質のスポットをゲルから優先的に選択して切り出し、トリプシンでゲル内消化後、質量分析及び同定、すなわち、Peptide Mass Fingerprinting が容易にできるようになった。

一連の操作により、同定できたタンパク質を機能別に分類した結果、発現が誘導されたタンパク質の多くは、芳香族化合物分解代謝に関与するタンパク質（酵素）であった。例えば、ビフェニルを添加した際において蛍光ディファレンスゲル二次元電気泳動を行った場合、発現が誘導されているタンパク質のスポットに多くのビフェニル/PCB 分解酵素が含まれていた。これは、過去に申請者が転写 (RNA) レベルで調べた際に得られた結果と一致した [Watanabe *et al.*, *J. Biol. Chem.* **275**, 31016-31023 (2000); Watanabe *et al.*, *J. Bacteriol.* **185**, 3575-3582 (2003)]。また、芳香族化合物分解代謝系酵素以外にアミノ酸の代謝やストレスの応答に関与する酵素の誘導発現が一部認められた。さらに、誘導発現とまでは言えないものの、発現量が他と比較して多いタンパク質（酵素）としては、物質（基質）の輸送に関わるタンパク質が多く同定された。これらが芳香族化合物の輸送等に関わるかは、今後機能解析する必要があるが、効率の良い芳香族化合物の物質変換のためには、輸送系を強化した菌の育種も重要かもしれない。一方、今後も蛍光ディファレンスゲル二次元電気泳動をベースとしたプロテオミクス的手法により、様々な芳香族化合物を添加することによってどのようにビフェニル/PCB 分解細菌のタンパク質の発現プロファイルが動くのかを調べることは有用な微生物酵素のスクリーニングと同定のために必要と思われる。

(4) 以上のビフェニル/PCB 分解細菌のゲノミクス及びプロテオミクス的手法によって、今後、木質バイオマス等のリグニン由来の化合物から有用芳香族化合物を生産する上で鍵となる酵素をいくつか見つけることができた。その内、*R. wratislaviensis* T301 株に 3 個存在していた色素脱色型ペルオキシダーゼに注目した。本酵素は、強力な PCB 分解細菌 *R. jostii* RHA1 株で発見され、細菌由来のリグニンペルオキシダーゼ DypB と相同性が高く、機能も類似している可能性が高いが、RHA1 株の場合と異なり、大腸菌で可溶性発現ができなかった。しかしながら、T301 株が *Rhodococcus* 属細菌であることから、これら 3 個の色素脱色型ペルオキシダーゼにおいて、同属である *Rhodococcus* 属細菌の宿主ベクター系を用いたところ、高発現かつ可溶性発現に成功した。また、活性測定を行ったところ、大腸菌で異種発現した既知の色素脱色型ペルオキシダーゼよりも比活性が高く、最適 pH も異なり、比較的高温でも高い活性を保持しているという違いが見られた。さらに、ヒスチジンタグを付加しても活性は失われず、精製後のヘム化やマンガン添加により著しい活性の上昇が認められた。これら T301 株の色素脱色型ペルオキシダーゼが RHA1 株の DypB と同様にリグニンの構造に多く見られる  $\beta$ -アリル型エーテル結合を開裂する活性を有している可能性は高く、合成生物学的な手法における微生物の分子育種の際に導入するべき有用な酵素遺伝子の一つと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 7 件)

Watanabe, T. Screening and identification of useful enzymes from biphenyl/PCB-degrading bacteria that metabolize lignin-derived aromatic compounds. *Sustainable Humanosphere* **15** (2019). *in press* (査読無) ISSN: 1880-6503

Hirose, J., Fujihara, H., Watanabe, T., Kimura N., Suenaga, H., Futagami, H., Goto, M., Suyama, A., Furukawa, K. Biphenyl/PCB degrading *bph* genes of ten bacterial strains isolated from biphenyl-contaminated soil in Kitakyushu, Japan: comparative and dynamic features as integrative conjugative elements (ICEs). *Genes* **10**, 404 (2019). (査読有) DOI: 10.3390/genes10050404

Kimura, N., Watanabe, T., Suenaga, H., Fujihara, H., Futagami, T., Goto, M., Hanada, S., Hirose, J. *Pseudomonas furukawaii* sp. nov., a polychlorinated biphenyl-degrading bacterium isolated from biphenyl-contaminated soil in Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **68**, 1429-1435 (2018). (査読有) DOI: 10.1099/ijsem.0.002670

Watanabe, T., Yoshioka, K., Kido, A., Lee, J., Akiyoshi, H., Watanabe, T. Preparation of intracellular proteins from a white-rot fungus surrounded by polysaccharide sheath and optimization of their two-dimensional electrophoresis for proteomic studies. *J. Microbiol. Methods* **142**, 63-70 (2017). (査読有) DOI: 10.1016/j.mimet.2017.09.009

Suenaga, H., Fujihara, H., Kimura, N., Hirose, J., Watanabe, T., Futagami, T., Goto, M., Shimodaira, J., Furukawa, K. Insights into the genomic plasticity of *Pseudomonas putida* KF715, a strain with unique biphenyl-utilizing activity and genome instability properties. *Environ Microbiol Rep.* **9**, 589-598 (2017). (査読有) DOI: 10.1111/1758-2229.12561

Suenaga, H., Yamazoe, A., Hosoyama, A., Kimura, N., Hirose, J., Watanabe, T., Fujihara, H.,

Futagami, T., Goto, M., Furukawa, K. Complete genome sequence of the polychlorinated biphenyl-degrading bacterium *Pseudomonas putida* KF715 (NBRC 110667) isolated from biphenyl-contaminated soil. *Genome Announc.* 5(1):e01624-16 (2017). (査読有) DOI: 10.1128/genomeA.01624-16

Watanabe, T., Fujihara, H., Hirose, J., Suenaga, H., Kimura, N. Use of biphenyl/polychlorinated biphenyl-degrading bacteria for the production of useful aromatic compounds. *Sustainable Humanosphere* 12, 5 (2016). (査読無) ISSN: 1880-6503

〔学会発表〕(計16件)

竹下智尊, 小代安莉, 末永光, 木村信忠, 廣瀬遵, 渡邊崇人, 後藤正利, 二神泰基, 古川謙介, 藤原秀彦. ゲノム構造不安定株を用いた遺伝子水平伝播の遺伝因子の探索. 第25回日本生物工学会九州支部大会(鹿児島) 2018. 12. 1.

渡邊崇人, 藤原秀彦, 末永光, 木村信忠, 廣瀬遵, 二神泰基, 陶山明子, 後藤正利, 古川謙介. ビフェニル/PCB 分解細菌 *Rhodococcus wratislaviensis* T301 株の色素脱色型ペルオキシダーゼの発現と活性. 第385回生存圏シンポジウム「第15回持続的生存圏創成のためのエネルギー循環シンポジウム—マイクロ波高度利用と先端分析化学—」第8回先進素材開発解析システム(ADAM)シンポジウム—マイクロ波高度利用生存圏フラッグシップ共同研究—(宇治) 2018. 11. 26.

赤木友美, 上西凧紗, 廣瀬遵, 末永光, 木村信忠, 藤原秀彦, 渡邊崇人, 宮武宗利, 横井春比古, 二神泰基, 後藤正利, 陶山明子, 古川謙介. PCB 分解性細菌 KF707 株の安息香酸分解経路によるプロモ安息香酸の共代謝. 日本農芸化学会 2018 年度西日本支部大会(熊本) 2018. 9. 21-22. (発表日 2018. 9. 22)

上西凧紗, 赤木友美, 廣瀬遵, 末永光, 木村信忠, 藤原秀彦, 渡邊崇人, 宮武宗利, 横井春比古, 二神泰基, 後藤正利, 陶山明子, 古川謙介. PCB 分解性細菌 KF707 株の安息香酸分解経路によるクロロ安息香酸の共代謝. 日本農芸化学会 2018 年度西日本支部大会(熊本) 2018. 9. 21-22. (発表日 2018. 9. 22)

Suenaga, H., Fujihara, H., Kimura, N., Hirose, J., Watanabe, T., Futagami, T., Goto, M., Furukawa, K. Insight into genome plasticity of *Pseudomonas putida* KF715 which has unique properties in biphenyl-utilizing activity and genome instability. 17th International Symposium on Microbial Ecology, Leipzig, Germany, Aug. 12-17, 2018.

廣瀬遵, 米村凌, 末永光, 木村信忠, 渡邊崇人, 宮武宗利, 横井春比古, 二神泰基, 後藤正利, 藤原秀彦, 古川謙介. PCB/ビフェニル分解性シュードモナス細菌の安息香酸分解系トランスポゾン欠失株の諸性質. 日本農芸化学会 2018 年度(平成30年度)大会(名古屋) 2018. 3. 15-18. (発表日 2018. 3. 16)

渡邊崇人. *Rhodococcus* 属細菌の宿主ベクター系を用いた色素脱色型ペルオキシダーゼの発現. 第7回 KF ゲノム研究セミナー(福岡) 2017. 12. 15.

渡邊崇人, 藤原秀彦, 末永光, 木村信忠, 廣瀬遵, 二神泰基, 後藤正利, 古川謙介. ビフェニル/PCB 分解細菌 *Rhodococcus wratislaviensis* T301 株の dye-decolorizing peroxidase 遺伝子の単離と発現. 第356回生存圏シンポジウム「第14回持続的生存圏創成のためのエネルギー循環シンポジウム—マイクロ波高度利用と先端分析化学—」第7回先進素材開発解析システム(ADAM)シンポジウム—マイクロ波高度利用生存圏フラッグシップ共同研究—(宇治) 2017. 11. 27

藤原秀彦, 中尾桜, 東沙紀, 末永光, 木村信忠, 渡邊崇人, 廣瀬遵, 二神泰基, 後藤正利, 古川謙介. ビフェニル分解特性を高頻度に転移・欠失する *P. putida* KF715 株のゲノム再編成能に寄与する遺伝因子. 環境微生物系学会合同大会 2017(仙台) 東北大学川内北キャンパス 2017. 8. 29-31. (発表日 2017. 8. 30)

廣瀬遵, 寺野貴洋, 横井春比古, 末永光, 木村信忠, 渡邊崇人, 二神泰基, 後藤正利, 藤原秀彦, 古川謙介. 同一サイトで分離された PCB 分解性細菌 (KF 株) 10 菌株のビフェニル分解系 *bph* 遺伝子の多様性. 環境微生物系学会合同大会 2017(仙台) 東北大学川内北キャンパス 2017. 8. 29-31. (発表日 2017. 8. 29)

末永光, 藤原秀彦, 木村信忠, 廣瀬遵, 渡邊崇人, 二神泰基, 後藤正利, 古川謙介. ビフェニル/PCB 分解能力を高頻度に転移・欠失する *Pseudomonas putida* KF715 株のゲノム構造の柔軟性. 日本農芸化学会 2017 年度(平成29年度)大会(京都) 2017. 3. 17-20. (発表日 2017. 3. 20)

廣瀬遵, 米村凌, 横井春比古, 末永光, 木村信忠, 廣瀬遵, 渡邊崇人, 二神泰基, 後藤正利, 藤原秀彦, 古川謙介. ビフェニル/PCB 分解性 *Pseudomonas* 細菌の *bph-sal* element 上にコードされるサリチル酸および安息香酸分解系遺伝子のクローニングおよび機能解析. 日本農芸化学会 2017 年度(平成29年度)大会(京都) 2017. 3. 17-20. (発表日 2017. 3. 20)

渡邊崇人, 藤原秀彦, 末永光, 木村信忠, 廣瀬遵, 二神泰基, 後藤正利, 古川謙介. 木質バイオマスからの有用芳香族化合物生産のためのビフェニル/PCB 分解細菌の利用. 第

330 回生存圏シンポジウム「第 13 回持続的生存圏創成のためのエネルギー循環シンポジウム—マイクロ波高度利用と先端分析化学—」「第 6 回先進素材開発解析システム (ADAM)シンポジウム—マイクロ波高度利用生存圏フラッグシップ共同研究—」(宇治) 2017. 1. 10.

渡邊崇人, 藤原秀彦. *Rhodococcus wratislaviensis* T301 株のリグニン由来芳香族化合物代謝に関与する遺伝子の探索と単離. 第 6 回 KF ゲノム研究セミナー (福岡) 2016.12.16.

米村凌, 廣瀬遵, 横井春比古, 木村信忠, 末永光, 渡邊崇人, 二神泰基, 後藤正利, 藤原秀彦, 古川謙介. ビフェニル/PCB 分解性 *Pseudomonas* 細菌の *bph* オペロンの近傍にコードされる *sal* および *bza* 遺伝子クラスターの機能解析. 第 23 回日本生物工学会九州支部飯塚大会 (飯塚) 2016. 12. 3.

渡邊崇人, 藤原秀彦, 末永光, 木村信忠, 廣瀬遵, 二神泰基, 後藤正利, 古川謙介. ビフェニル/PCB 分解細菌のリグニン由来芳香族化合物代謝酵素の探索と同定. 第 68 回日本生物工学会大会 (富山) 2016. 9. 28-30. (発表日 2016. 9. 29)

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 藤原 秀彦

ローマ字氏名: (FUJIHARA, Hidehiko)

所属研究機関名: 別府大学

部局名: 食物栄養科学部

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 10435167

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。