

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25292043

研究課題名(和文) スフィンゴモナス細菌群の新規物質代謝能力獲得を司る機構の解明とその応用

研究課題名(英文) Mechanisms for acquiring ability to degrade novel compounds in sphingomonads and their applications

研究代表者

永田 裕二 (Nagata, Yuji)

東北大学・生命科学研究科・准教授

研究者番号：30237531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：スフィンゴモナス細菌群が有する特殊能力である難分解性環境汚染物質gamma-hexachlorocyclohexane分解資化能の獲得機構に着目した研究を実施し、(i) 鍵となる分解酵素が変異の蓄積で活性を段階的に変化させること、(ii) スフィンゴモナス特有のプラスミドや特定の挿入配列が新規遺伝子の獲得に重要な役割を担っていること、(iii) スフィンゴモナス細菌群が難分解性物質代謝に適した遺伝的背景を有していること、などを明示し、将来的な応用にも繋がる細菌の新規能力獲得に関する重要な知見を得た。

研究成果の概要(英文)：Studies on degradation of a recalcitrant environmental pollutant, gamma-hexachlorocyclohexane, in sphingomonads revealed that (i) activity of a key enzyme was improved in stepwise manner by the accumulation of single mutations, (ii) sphingomonads-specific plasmids and an insertion sequence play significant roles to acquire novel genes, (iii) sphingomonads have genetic background suitable for the degradation of recalcitrant compounds. These important knowledges for the functional evolution of bacteria in the environment can be used for the practical applications in the future.

研究分野：応用微生物学

キーワード：スフィンゴモナス 環境汚染物質 可動性遺伝因子 ゲノム 進化

## 1. 研究開始当初の背景

環境細菌は様々な環境変化に適応するための潜在能力を有している。難分解性環境汚染物質分解能は環境細菌が発揮する特殊能力の典型的な例のひとつであり、これまでに世界中で様々な環境汚染物質分解細菌が単離され、それら細菌が有する分解酵素・遺伝子の同定および機能解明が実施されてきた。特に、芳香族化合物の微生物分解については多くの知見が蓄積され、これら知見の環境浄化への応用も模索されている。しかし、一方で、化学合成により生産された有機塩素系化合物を分解する細菌に関する知見は限られており、殺虫剤  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane ( $\gamma$ -HCH) および反応副産物の各種 HCH 異性体、DDT、ドリソ剤など persistent organic pollutants (POPs) と総称される化合物による環境汚染は、先進諸国が使用を禁止している現在においても、世界的に深刻な問題となっている。我々は、好氣的条件下で  $\gamma$ -HCH を分解資化する細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株を対象とした研究を一貫して実施し、世界的に重要な環境汚染物質である  $\gamma$ -HCH の微生物代謝系の全貌を世界に先駆けて解明すると共に、その分解機構の詳細を明らかにした。一方、本株を含むスフィンゴモナス細菌群と総称される細菌群は環境中に広く棲息し、各種有機塩素系化合物やポリマー、リグニン誘導体などの高度に難分解性の化合物分解能を有する株が本細菌群に含まれるが、それぞれの株は特定の物質代謝能力に特化した「スペシャリスト」である。さらに、申請者らが完全決定した UT26 株の全ゲノム配列を他のスフィンゴモナス細菌株のゲノム情報と比較した結果、本細菌群は (1) 様々な物質代謝能力の発揮の共通の基盤となる遺伝子構成を有していること、(2) 「環境遺伝子プール」(環境細菌が利用できる遺伝情報の総体) との遺伝子交換を活発に行うこと、(3) 細胞内で酵素遺伝子の進化やダイナミックなゲノム構造の変化を起こしやすいこと、が強く示唆された。すなわち、スフィンゴモナス細菌群は極めて難分解性の特殊な物質代謝能力を比較的短期間で獲得し、発揮しやすい性質を有していると考えられる。これら性質を司る分子機構が解明できれば、細菌の新規能力獲得機構に関する新規な普遍的生命原理の発見に繋がると共に、その能力を強化することで、物質代謝に関わる未利用な微生物機能を効率的に開発するための細菌細胞系の構築も可能であると期待できる。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者らが確立した有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -HCH 完全分解資化細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株およびその類縁スフィンゴモナス細菌株の実験系を利用して、高度に難分解性の有機塩素系化合物分解能に注目し、(1) スフィンゴモナス細菌群特有の基本的細胞機能の解明、(2) 細胞外「環境遺伝子プール」からの新規遺伝子獲得に関わるスフィンゴモナス細菌群に特有の可動性遺伝因子に関する研究、(3) 獲得遺伝子の最適化に関わる細胞内での酵素遺伝子進化およびゲノム構造変化に関する研究、を平行して実施し、スフィンゴモナス細菌株が特殊能力を獲得・発揮するための分子基盤を解明する。さらに得られる知見を利用して、(4) スフィンゴモナス細菌細胞を利用した未利用微生物機能開発系の構築を目指す。

## 3. 研究の方法

各項目について、以下の実験を実施した。

(1) スフィンゴモナス細菌群特有の基本的細胞機能の解明

UT26 株の  $\gamma$ -HCH 分解資化には、直接の分解酵素だけでなく、推定 ABC トランスポーター LinKLMN が必要であるが、その機能は未解明である。そこで、本研究では、LinKLMN の生化学的解析系の構築を試みた。

(2) スフィンゴモナス細菌群に特有の可動性遺伝因子に関する研究

スフィンゴモナス細菌群の新規能力獲得には、スフィンゴモナス細菌群に特異的なプラスミドと特有の挿入配列が重要であることが示唆されている。本研究では、UT26 株以外の  $\gamma$ -HCH 分解資化細菌 3 株の全ゲノム配列を完全決定し、精査することで、これら可動性遺伝因子の性質を明らかにした。また、スフィンゴモナス細菌群の細胞内で実際に転移活性を有するトランスポゾンを用いて IS entrapment 法を用いて実験的に検討した。

(3) 細胞内での酵素遺伝子進化およびゲノム構造変化に関する研究

$\beta$   $\gamma$ -HCH 分解資化に関与するハロアルカンデハロゲナーゼ (HLD) の LinB には、数アミノ酸残基が異なる variants が存在し、数アミノ酸残基の違いで  $\beta$ -HCH に対する分解活性が劇的に変化する。本研究では、UT26 株の LinB に累積置換を導入することで、活性の変

化様式を追跡した。また、様々な細菌ゲノムおよびメタゲノム配列に LinB ホモログである推定 HLD 遺伝子が存在する。本研究では、それらのうち、特に興味深いものについて当該遺伝子保持細菌での機能と HLD 活性を検討した。さらに、HLD の機能進化を実験的に検証するための *in vivo* 進化実験系の構築を試みた。

項目 で用いた $\gamma$ -HCH 分解資化細菌 4 株の完全ゲノム配列を用いて、スフィンゴモナス細菌株ゲノムの構造変化について解析を行った。また、可能な限り実験的な検証も行った。

(4) スフィンゴモナス細菌細胞を利用した未利用微生物機能開発系の構築

UT26 株などの天然の $\gamma$ -HCH 分解細菌株では、分解酵素遺伝子群 (*lin genes*) がゲノム上に散在し、また、近傍に挿入配列が存在し遺伝的に不安定であることから、 $\gamma$ -HCH 分解能の改良や環境試料からの新規遺伝子取得の宿主としての応用的な利用が困難である。そこで、本研究では、UT26 株由来の *lin genes* をクラスター化して他株に導入し、新規の $\gamma$ -HCH 分解細菌株の構築が可能であるか検討した。

#### 4. 研究成果

(1) スフィンゴモナス細菌群特有の基本的細胞機能の解明

LinKLMN 各コンポーネントの大腸菌での高発現・精製系を確立すると共に、ペリプラズムに局在すると推定される LinM が輸送基質と結合するであろう点に着目し、LinM と結合する生体成分を解明するための分子間相互作用解析装置を利用する系を立ち上げた。また、他株の LinKLMN ホモログが UT26 株の *linKLMN* 遺伝子破壊株の機能を相補できることを明らかにした。

(2) スフィンゴモナス細菌群に特有の可動性遺伝因子に関する研究

$\alpha$   $\gamma$ -HCH 分解資化細菌 *Sphingomonas* sp. MM-1 株、*Sphingobium* sp. MI1205 株、*Sphingobium* sp. TKS 株の全ゲノム配列を完全決定し、UT26 株と併せて全 4 株の完全ゲノム配列を精査した。その結果、スフィンゴモナス細菌株に特有の複製・維持機構を有する複数のプラスミドが新規能力獲得に重要であること、および特定の挿入配列 IS6100 が *lin genes* を含む領域の「編集」機能を担っていることを明らかにした。また、実験的に、 $\gamma$ -HCH 分解細菌株細胞中で実際に転移する

IS6100 を含むトランスポゾン複数検出した。

(3) 細胞内での酵素遺伝子進化およびゲノム構造変化に関する研究

LinB が 1 アミノ酸残基の変異の蓄積で $\beta$ -HCH に対する分解活性を段階的に変化させることを明示した。また、いくつかの推定 HLD 遺伝子産物が実際に新規の HLD 活性を有することを明示した。特に、PCB/biphenyl 分解細菌 *Acidovorax* sp. KKS102 株には、tRNA を修飾する deaminase と繋がった HLD をコードする新規な遺伝子が存在したため、詳細な解析を実施し、本遺伝子の deaminase ドメインをコードする領域が KKS102 株の通常培地での生育に影響を及ぼすこと、および HLD ドメインが実際に HLD 活性を示すこと、を明らかにした。さらに、HLD の機能進化を実験的に検証するため、UT26 株の *linB* を他の HLD で置換した株を構築する系を確立し、実際に複数の *linB* 置換型株を作製した。中には $\gamma$ -HCH 代謝産物に対する弱い分解活性を示す *linB* 置換型株もあり、目的の *in vivo* 進化実験系を確立し、その有効性を提示できた。

項目 で用いた $\gamma$ -HCH 分解資化細菌 4 株の完全ゲノム配列から、IS6100 がレプリコン間の融合・解離を伴う大規模なゲノム再編成に関与している痕跡を見出した。また、UT26 株以外の $\gamma$ -HCH 分解細菌には、下流代謝系遺伝子として UT26 株のものとは相同性の低い遺伝子を利用する株が存在することを明らかにした。これらの結果から環境中で $\gamma$ -HCH 分解資化細菌が如何にして誕生したかに関するモデルを提唱すると共に、その一部については実験的検証も実施した。

(4) スフィンゴモナス細菌細胞を利用した未利用微生物機能開発系の構築

UT26 株由来の *lin genes* をクラスター化して類縁菌株に導入し、新規の $\gamma$ -HCH 分解細菌株の人工合成に成功した。本株は IS6100 を持たず、*lin genes* を遺伝的に安定に維持することから、今後、 $\gamma$ -HCH 分解能の改良や環境試料からの新規遺伝子取得の宿主として優れていると考えられる。

総括：

本研究を通じて、将来的な応用にも繋がる、環境細菌のゲノム進化および酵素遺伝子進化に関する重要な知見を得た。また、関連研究を進展させ、将来的に詳細な遺伝学的・生化学的実験を行うための系を確立した。以上、当初の目的はほぼ達成できたと考えている。本研究で得られた成果の多くは期間内に国際学術誌に発表、もしくは投稿した。しかし、

現時点ではまだ未発表のものも含まれており、これらについては今後、順次発表していく予定である。

また、本研究での直接的成果以外にも、類縁の環境細菌を対象とした関連研究に関する成果も多く得られ、論文および学会を通じて発表した。このように、今回の科学研究費の受領が研究代表者らの行っている研究をさらに進展させる上で多大な援助になったことはいうまでもなく、ここに心から感謝の意を表したい。また、本研究に携わった大学院学生および研究協力者の諸氏にもこの機会にあわせて謝意を表したい。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計26件 全て査読あり)

1. **Tabata M, Ohhata S, Kawasumi T, Nikawadori Y, Kishida K, Sato T, Ohtsubo Y, Tsuda M, Nagata Y**. Complete genome sequence of a  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane degrader, *Sphingobium* sp. strain TKS, which was isolated from a  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading microbial community. *Genome A* **4:e00247-16** (2016) doi:10.1128/genomeA.00247-16.
2. **Tabata M, Ohhata S, Nikawadori Y, Sato T, Kishida K, Ohtsubo Y, Tsuda M, Nagata Y**. Complete genome sequence of a  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium *Sphingobium* sp. strain MI1205. *Genome A* **4:e00246-16** (2016) doi:10.1128/genomeA.00246-16
3. **Minami T, Ohtsubo Y, Anda M, Nagata Y, Tsuda M, Mitsui H, Sugawara M, Minamisawa K**. Complete genome sequence of *Methylobacterium* sp. strain AMS5, an isolate from a soybean stem. *Genome A* **4:e00144-16** (2016) doi:10.1128/genomeA.00144-16
4. **Anda M, Ohtsubo Y, Okubo T, Sugawara M, Nagata Y, Tsuda M, Minamisawa K, Mitsui H**. Bacterial clade with the ribosomal RNA operon on a small plasmid rather than the chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* **112:14343-14347** (2015) doi:10.1073/pnas.1514326112
5. **Ohtsubo Y, Nagata Y, Numata M, Tsuchikane K, Hosoyama A, Yamazoe A, Tsuda M, Fujita N, Kawai F**. Complete genome sequence of *Sphingomyxis macrogoltabidus* type strain NBRC 15033, originally isolated as a polyethylene glycol-degrader. *Genome A* **3:e01401-15** (2015) doi:10.1128/genomeA.01401-15
6. **Ohtsubo Y, Nagata Y, Numata M, Tsuchikane K, Hosoyama A, Yamazoe A, Tsuda M, Fujita N, Kawai F**. Complete genome sequence of a polypropylene glycol-degrading strain *Microbacterium* sp. No.7. *Genome A* **3:e01400-15** (2015) doi:10.1128/genomeA.01400-15
7. **Ohtsubo Y, Nagata Y, Numata M, Tsuchikane K, Hosoyama A, Yamazoe A, Tsuda M, Fujita N, Kawai F**. Complete genome sequence of a polypropylene glycol and polyethylene glycol-degrading strain *Sphingopyxis macrogoltabida* EY-1. *Genome A* **3:e01399-15** (2015) doi:10.1128/genomeA.01399-15
8. **Ohtsubo Y, Moriya A, Kato H, Ogawa N, Nagata Y, Tsuda M**. Complete genome sequence of a phenanthrene degrader *Burkholderia* sp. HB-1 (NBRC:110738). *Genome A* **3:e01283-15** (2015) doi:10.1128/genomeA.01283-15
9. **Kato H, Mori H, Maruyama F, Toyoda A, Oshima K, Endo R, Fuchu G, Miyakoshi M, Dozono A, Ohtsubo Y, Nagata Y, Hattori M, Fujiyama A, Kurokawa K, Tsuda M**. Time series metagenomic analysis reveals robustness of soil microbiome against chemical disturbance. *DNA Research* **22:413-424** (2015) doi:10.1093/dnares/dsv023
10. **Ohtsubo Y, Nagata Y, Numata M, Tsuchikane K, Hosoyama A, Yamazoe A, Tsuda M, Fujita N, Kawai F**. Complete genome sequence of a polyvinyl alcohol-degrading strain *Sphingopyxis* sp. 113P3 (NBRC 111507). *Genome A* **3:e01169-15** (2015) doi:10.1128/genomeA.01169-15
11. **Kato H, Ogawa N, Ohtsubo Y, Oshima K, Toyoda A, Mori H, Nagata Y, Kurokawa K, Hattori M, Fujiyama A, Tsuda M**. Complete genome sequence of a phenanthrene degrader, *Mycobacterium* sp. strain EPa45 (NBRC 110737), isolated from a phenanthrene-degrading consortium. *Genome A* **3:e00782-15** (2015) doi:10.1128/genomeA.00782-15
12. **Nagayama H., Sugawara T, Endo R, Ono A, Kato H, Ohtsubo Y, Nagata Y, Tsuda M**. Isolation of oxygenase genes for indigo-forming activity from an artificially polluted soil metagenome by functional screening using *Pseudomonas putida* strains as hosts. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99:4453-4470** (2015) doi:10.1007/s00253-014-6322-2
13. **Nagata Y, Ohtsubo Y, Tsuda M**. Properties and biotechnological applications of natural and engineered haloalkane dehalogenases. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99:9865-9881** (2015) doi:10.1007/s00253-015-6954-x
14. **Moriuchi R, Tanaka H, Nikawadori Y, Ishitsuka M, Ito M, Ohtsubo Y, Tsuda M, Damborsky J, Prokop Z, Nagata Y**. Stepwise enhancement of catalytic performance of haloalkane dehalogenase LinB towards  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane. *AMB Express* **4:72** (2014) doi:10.1186/s13568-014-0072-5
15. **Chaloupkova R, Prudnikova T, Rezacova P, Prokop Z, Koudelakova T, Daniel L, Brezovsky J, Ikeda-Ohtsubo W, Sato Y, Kutý M, Nagata Y, Smatanova IK**

- Damborsky J.** Structural and functional analysis of novel haloalkane dehalogenase with two halide-binding sites. *Acta Crystallographica Section D* **D70**:1884-1897 (2014) doi:10.1107/S1399004714009018
16. **Nagata Y, Senbongi J, Ishibashi Y, Sudo R, Miyakoshi M, Ohtsubo Y, Tsuda M.** Identification of *Burkholderia multivorans* ATCC 17616 genetic determinants for fitness in soil by using signature-tagged mutagenesis. *Microbiology* **160**:883-891 (2014) doi:10.1099/mic.0.077057-0
17. **Ohtsubo Y, Kishida K, Sato T, Tabata M, Kawasumi T, Ogura Y, Hayashi T, Tsuda M, Nagata Y.** Complete genome sequence of *Pseudomonas* sp. strain TKP, isolated from a  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading mixed culture. *Genome A* **2**:e01241-13 (2014) doi:10.1128/genomeA.01241-13
18. **Shintani M, Ohtsubo Y, Fukuda K, Hosoyama A, Ohji S, Yamazoe A, Fujita N, Nagata Y, Tsuda M, Hatta T, Kimbara K.** Complete genome sequence of the thermophilic polychlorinated biphenyl degrader *Geobacillus* sp. strain JF8 (NBRC 109937). *Genome A* **2**:e01213-13 (2014) doi:10.1128/genomeA.01213-13
19. **Ohtsubo Y, Sato T, Kishida K, Tabata M, Ogura Y, Hayashi T, Tsuda M, Nagata Y.** Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* MTB-1, isolated from a microbial community enriched by the technical formulation of hexachlorocyclohexane. *Genome A* **2**:e01130-13 (2014) doi:10.1128/genomeA.01130-13
20. **Mori H, Maruyama F, Kato H, Toyoda A, Dozono A, Ohtsubo Y, Nagata Y, Fujiyama A, Tsuda M, Kurokawa K.** Design and experimental application of a novel non-degenerate universal primer set that amplifies prokaryotic 16S rRNA genes with a low possibility to amplify eukaryotic rRNA genes. *DNA Res* **21**:217-227 (2014) doi:10.1093/dnares/dst052
21. **Ohtsubo Y, Fujita N, Nagata Y, Tsuda M, Iwasaki T, Hatta T.** Complete genome sequence of *Ralstonia pickettii* DTP0602, a 2,4,6-trichlorophenol degrader. *Genome A* **1**:e00903-13 (2013) doi:10.1128/genomeA.00903-13
22. **Inoue K, Miyazaki R, Ohtsubo Y, Nagata Y, Tsuda M.** Inhibitory effect of *Pseudomonas putida* nitrogen-related phosphotransferase system on conjugative transfer of IncP-9 plasmid from *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* **345**:102-109 (2013) doi:10.1111/1574-6968.12188
23. **Tabata M, Ohtsubo Y, Ohhata S, Tsuda M, Nagata Y.** Complete genome sequence of the  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium *Sphingomonas* sp. strain MM-1. *Genome A* **1**:e00247-13 (2013) doi:10.1128/genomeA.00247-13
24. **Okai M, Ohtsuka J, Imai L.F., Mase T, Moriuchi R, Tsuda M, Nagata K, Nagata Y, Tanokura M.** Crystal structure and site-directed mutagenesis analysis of haloalkane dehalogenase LinB from *Sphingobium* sp. MI1205. *J. Bacteriol.* **195**:2642-2651 (2013) doi:10.1128/JB.02020-12
25. **Hassan K, Gora A, Brezovsky J, Chaloupkova R, Moskalikova H, Fortova A, Nagata Y, Damborsky J, Prokop Z.** The effect of a unique halide-stabilizing residue on the catalytic properties of haloalkane dehalogenase DatA from *Agrobacterium tumefaciens* C58. *FEBS J.* **280**:3149-3159 (2013) doi:10.1111/febs.12238
26. 永山浩史、菅原智詞、遠藤諒、加藤広海、大坪嘉行、永田裕二、津田雅孝 機能相補による芳香族化合物複合汚染土壌からの新規分解酵素遺伝子の検索 *Journal of Environmental Biotechnology* **13**:51-56 (2013)
- 〔学会発表〕(計 74 件)  
(招待講演、シンポジウム、国際学会等、主な発表 12 件のみを記載)
1. 小山旺, 森内良太, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝 ハロアルカンテハロゲナーゼの細胞内酵素機能進化系の構築 日本農芸化学会 2016 年度大会 2016 年 3 月 27-30 日 札幌コンベンションセンター(北海道、札幌市)
2. 佐藤あや華, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝 PCB/biphenyl 分解細菌株が有する新規 haloalkane dehalogenase 遺伝子の解析 日本農芸化学会 2016 年度大会 2016 年 3 月 27-30 日 札幌コンベンションセンター(北海道、札幌市)
3. **Nagata Y, Moriuchi R, Ohtsubo Y, Tsuda M** Haloalkane dehalogenases in bacteria. The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015)(招待講演) 2015 年 12 月 15-20 日 Honolulu, Hawaii, USA
4. 永田裕二, 大坪嘉行, 津田雅孝 環境を汚染する難分解性農薬分解遺伝子群の水平伝播 第 30 回日本微生物生態学会年次大会シンポジウム「環境での遺伝 子リスクの醸成:薬剤耐性と病原性の遺伝子伝播」(招待講演) 2015 年 10 月 17-20 日 土浦亀城プラザ(茨城県、土浦市)
5. 荷川取佑記, 宮崎亮, 古屋佑磨, 大畑智史, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝 有機塩素系殺虫剤 $\gamma$ -hexachlorocyclohexane 分解細菌の分子育種 日本農芸化学会 2015 年大会 2015 年 3 月 26-29 日 岡山大学(岡山県、岡山市)
6. 荷川取佑記, 宮崎亮, 古屋佑磨, 大畑智史, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝 クラスタ化した代謝酵素遺伝子群の導入による有機塩素系殺虫剤 $\gamma$ -HCH 分解細菌の分子育種 第 9 回日本ゲノム微生物学会年会 2015 年 3 月 6-8 日 神戸大学(兵庫県、神戸市)
7. 永田裕二, 田端理朗, 大畑智史, 荷川取佑記, 大坪嘉行, 津田雅孝 完全ゲノム配列比較に基づいた人為起源有機塩素系殺虫剤 $\gamma$ -HCH 分解細菌の出現と進化の考察 環境微生物系学会合同大会 2014 2014 年 10 月

21~24 日 アクトシティ浜松コンgresセンター (静岡県、浜松市)

8. 荷川取佑記, 宮崎亮, 古屋佑磨, 大畑智史, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝 クラスタ化した代謝酵素遺伝子群の導入による有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane 資化能を有する新規細菌株の分子育種 環境微生物系学会合同大会 2014 2014 年 10 月 21~24 日 アクトシティ浜松コンgresセンター (静岡県、浜松市)
9. **Nagata Y, Tabata M, Ohhata S, Nikawadori Y, Ohtsubo Y, Tsuda M.** Comparison of complete genome sequences of four  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading sphingomonad strains. 15th International Symposium on Microbial Ecology 2014 年 8 月 24~29 日 Seoul, South Korea
10. 荷川取佑記, 大畑智史, 田端理朗, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝 有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane 分解能を有するスフィンゴモナッド細菌群の挿入配列に関する研究 日本農芸化学会 2014 年大会 2014 年 3 月 27~30 日 明治大学生田キャンパス (神奈川県、川崎市)
11. 大畑智史, 田端理朗, 荷川取佑記, 大坪嘉行, 永田裕二, 津田雅孝  $\gamma$ -HCH 分解能を有する sphingomonad 細菌株における可動性遺伝子を介したゲノム動態の解析 日本農芸化学会 2014 年大会 2014 年 3 月 27~30 日 明治大学生田キャンパス (神奈川県、川崎市)
12. 永田裕二, 森内良太, 田中裕興, 大坪嘉行, 津田雅孝 累積置換変異導入によるハロアルカンデハログナーゼ LinB の  $\beta$ -HCH 分解活性の機能進化に関する研究 環境バイオテクノロジー学会 2013 年度大会 2013 年 5 月 30 日~6 月 1 日 北九州国際会議場 (福岡県北九州市)

[ 図書 ] ( 計 3 件 )

1. **Nagata Y, Tabata M, Ohtsubo Y, Tsuda M.** Biodegradation of Organochlorine Pesticides, Chapter 5.1.2 p. 1-30. In Yates M, Nakatsu C, Miller R, Pillai S (ed), *Manual of Environmental Microbiology, 4th Edition*. ASM Press, Washington, DC. (2015) doi:10.1128/9781555818821.ch5.1.2
2. **Ohtsubo Y, Nishiyama E, Ishibashi Y, Nagata Y, Tsuda M.** Strategies to reveal genomic function in natural soil systems. In: Nojiri H, Tsuda M, Fukuda M, Kamagata Y (eds) *Biodegradative Bacteria*. Springer Verlag, Tokyo ( 総ページ数 358 ) pp 279-291 (2014) doi:10.1007/978-4-431-54520-0\_14
3. **Nagata Y, Tabata M, Ohhata S, Tsuda M.** Appearance and evolution of  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading bacteria. In: Nojiri H, Tsuda M, Fukuda M, Kamagata Y (eds) *Biodegradative Bacteria*. Springer Verlag, Tokyo ( 総ページ数 358 ) pp 19-41 (2014) doi:10.1007/978-4-431-54520-0\_2

[ 産業財産権 ]

出願状況 ( 計 0 件 )

取得状況 ( 計 0 件 )

## 6. 研究組織 (1) 研究代表者

永田 裕二 (NAGATA YUJI)  
東北大学・大学院生命科学研究科・准教授  
研究者番号: 30237531

## (2) 研究分担者

津田 雅孝 (TSUDA MASATAKA)  
東北大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号: 90172022

大坪 嘉行 (OHTSUBO YOSHIYUKI)  
東北大学・大学院生命科学研究科・助教  
研究者番号: 40342761

## (3) 研究協力者

Jiri Damborsky  
マサリク大学 (チェコ共和国)・理学部・教授

Zbynek Prokop  
マサリク大学 (チェコ共和国)・理学部・准教授

田之倉 優 (TANOKURA MASARU)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科  
・教授 研究者番号: 60136786

岡井 公彦 (OKAI MASAHIKO)  
東京海洋大学・大学院海洋科学技術研究科  
・助教 研究者番号: 00596562