

令和元年6月12日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08356

研究課題名(和文) Microcystin分解性細菌の新たな可能性の追究

研究課題名(英文) Pursuing new possibilities of microcystin-degrading bacteria

研究代表者

原田 健一 (Harada, Ken-ichi)

名城大学・薬学部・教授

研究者番号：90103267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Microcystinを特異的に分解するとして発見されたmicrocystin分解性細菌(B-9株)は、種々のペプチド類を分解することが示された。本研究では、B-9株の分解特性を詳細に調査し、以下の知見を得た。1) 次世代シーケンサーを用いてB-9株の全ゲノムの塩基配列を決定した。2) 従来の3種の加水分解酵素(MIrA-C)とトランスポーターであるMIrDに加えて新たな加水分解酵素(MIrE-F)とアミノ酸トランスポーターの存在を明らかにした。3) 加水分解挙動では、ジおよびトリペプチドまではMIrE単独で、そしてテトラペプチド以上ではMIrCとMIrEの協働で行われることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Microcystin分解性細菌は世界各地で発見され、多種多様であるが、ここまでの研究では、そのターゲットはmicrocystinおよび関連化合物のみであり、研究代表者が実施している「アミノ酸を含有する各種ペプチド類をターゲットにする研究」は皆無である。Microcystin分解のスクリーニングで偶然に得られた一連の微生物は、単にmicrocystinのみがターゲットではなく、あらゆるペプチド類を分解し、アミノ酸を獲得する機能を有している。今回、その機能の精緻さの一部が明らかとなり、今後意図通りに進行すれば、湖沼生態系の生物間相互作用の一端が解明できると考えている。

研究成果の概要(英文)：Microcystin-degrading bacteria (strain B-9) discovered as specifically degrading microcystin have been shown to degrade various peptides. In this study, the degradation characteristics of B-9 strain were investigated in detail, and the following findings were obtained. 1) The nucleotide sequence of the whole genome of strain B-9 was determined using a next-generation sequencer. 2) In addition to the three conventional hydrolases (MIrA-C) and the transporter MIrD, we clarified the existence of new hydrolases (MIrE and F) and an amino acid transporter. 3) The hydrolysis behavior was confirmed to be performed by MIrE alone up to the di- and tripeptides and by the cooperation of MIrC and MIrE above the tetrapeptide.

研究分野：化学生態学

キーワード：microcystin分解性細菌 プテアーゼ 加水分解特性 アミノ酸トランスポーター

20a(6861)~  
bS47bc 1984~ 1988  
Microcystis nodularin  
GZ7dC... 1996  
Caruaruwb3 microcystin 3  
1016H... 506... 1994  
Jones (1994) microcystin(0) MJ-PV4 & Sphingomonas sp.  
ACM-3962 4...  
3b... MrA MrB\ MrC> \  
N IE MrDb... microcystin(0) Bourne} (1996, 2001)  
d microcystin(0) V3b(0) G... K(0) w  
z\_ mlrAb... microcystin(0) G... C4KZ  
0... Mb... microcystin c MrA... microcystin  
IE MrB... tetrapeptide X MrC...  
8cSB β-... Addab...  
8 Z M4\$1 @, c I... v b b G b (0) 2 c E w E...  
(Hashimoto et al, 2009, Dziga et al, 2013) MrA... MrCc... MrBc  
Gv... (Bourne et al, 1996, 2001)  
y 1995 microcystin(0) M... KS (Harada & Tsuji,  
1998... x... b... Y  
K microcystin b(0) S... I8(0) gM B-9 4  
bKS (Tsuji et al, 2006), v3KS MJ-PV 4...  
c Sphingosinicella microcystinivorans... microcystin(0)  
0b... C... 4...  
] vP... .. c... microcystin b...  
32KS... N... G... IN... S4...  
G... I... (0) A Adda... g... KS (Harada et al,  
2004)...  
3... CG... I... GO  
BIOS (Tsuji et al, 2006)  
microcystin 8 nodularin (0) (Imanishi et al, 2005) d...  
a... aeruginopeptin, microviridin, microcyclamide, nostophycin  
( ) colistin, polymixin B, bacitracin mikamycin B x thiopeptin B  
(0) M... KS (Kato et al, 2007, 2009). Q...  
M... P... angiotensin, bradykinin x insulin (Kondo et al, 2012) g  
b... GLP-1 x GIP b(0) KS (Miyachi et al, 2015) Y  
S-S )... (0) ... €... M...  
IE B-9 4caCv 3 b... 4... NEP (neutral  
endopeptidase)b )...  
lu... S...  
b MrB ba... GLP-1 g...

EDTA (Miyachi et al, 2015) MirC 7MGE MirB

b(0Zb (Miyachi et al, 2015) MirB c&P&E

1KE a B JK4:AI MQ )4S\$

ö? 48 MirC c MirB #.AIS&E'

AMQ(M)Sc&Me

@ B-9 4KSG&M(0Z&E)P

SKK&b(0Z&E)c EDTA (7K&Gv8K&S&Gb)

Mp(0Z&E&Ej)E MirC (C&S&E

B MirE &K&Z&E&N@g&E

0, Eb%

& 1> B-9 4(0Z&E) 8 Microcystin (0Z&K&Z&E microcystin (0Z&E

c microcystin bsN(0Z&E)G&g&L&S&E

%& microcystin (0Z&E)pb&Abw&E

E&M&G&E~670(0Z&E)M&G&E

E&E&Z B-9 4(0Z&E)M&G&E~j

S&Eb&E E&E&OM&G&E&M

& 2> Microcystin (0Z&E)YE 8&Eb% E

M• microcystin (0Z&E)YE&M&G&E&V3&E&S)M&E

d B-9 4+ microcystin (0Z&E)M&G&E&E&M/G&E

b(0Z&E)E&V&Z&E&E&E&V3&E(0Z&E

7&8&E(0Z&E) 8&E 8Sb0&E

1, Eb%o

1 MirA, MirB E MirC b&E

0 E MirD b&E

1 E MirE b&E

2 B-9 4b E&E&E

3 E

4 E&E

2, EbY

Microcystin (0Z&E) B-9 4b(0Z&E)MSua&E

PacBio RS E&Z B-9 4b(0Z&E)K&S&E&E&S 3

b(0Z&E) MirA~C&E MirD E&E&E&E

& MirE> F> b4GE mlr E&E rS E&E

E&E E&E E&E

E E E&E&E&E

SV L S&E&E MirE E&E

MSub&E&K&S&E&N MirE b&E&MSu\_ L-''

AB \$BI&E(0Z&E) EDTA PMSF E<

0&K&S&E&E MirE E&E

MlrE c

MlrF b

LTrp L-Phe D-Trp D-Phe

Adda bv~3s9

1KS

L

D

EDTA

PMSF

20 t(NM)

Adda v~3tG

S(b)

microcystin (0)

S

D-aminoacylase

MlrF b

MlrD

S

*Sphingosinicella microcystinivorans* B-9 4M

Sphingomonadales (8)

c

S

68Tbp(8A)

W "mlr"

24 microcystin (0)

28 mlrA

S

microcystin (0)

c

cGbbIf

@ "mlr"

mlr

S

"microcystin"

"mlr"

i "

"microcystin (0"

microcystin b

S

"mlr"

3

1/4

7

2 b

1> H. Jin, Y. Hiraoka, Y. Okuma, E. H. Hashimoto, M. Kurita, A. R. J. Anas, H. Uemura, K. Tsuji, K.-I. Harada, Microbial degradation of amino acid-containing compounds using microcystin degrading bacterium B-9 strain, *Marine Drugs*, **16**, 50; doi:10.3390/md16020050 (2018).

2) H. Jin, T. Nishizawa, Y. Guo, A. Nishizawa, H.-D. Park, H. Kato, K. Tsuji and K.-I. Harada, Complete Genome Sequence of a Microcystin-Degrading Bacterium *Sphingosinicella microcystinivorans* Strain B-9, *Microbiol. Resource Announc.*, **7** (9), e00898-18, doi: 10.1128/MRA.00898-18 (2018).

30

14 b

1> 5

S

B-9 4b

10>

Microcystin (0)

S

B-9 4b

2> Haiyan Jin, Tomoyasu Nishizawa, Yong Guo, Akito Nishizawa, Ho-Dong Park, Hajime Kato, Kiyomi Tsuji, Ken-ichi Harada Complete genome sequence of a microcystin-degrading bacterium *Sphingosinicella microcystinivorans* strain B-9 8th Nanjing/Nagoya/Shenyang Symposium of Pharmaceutical Sciences (Nanjing, China)& 2018> .

3> 5 !ÖŸ Andrea R. J. Anas3 3 43 43 B-9  
4b@M1E& 9S0Z06 MlrE b0cE 83 G  
&3 (2018).

4> 5 0Ÿ 0Ÿ (24 3 3 43 Microcystin  
(0Ÿe B-9 4b@M1E 43 G0Ÿ (2018).

5> 5 0 4 Andrea R. J. Anas3 3 43 43  
B-9 4b@M1E — 13 G0Ÿ  
9> (2018).

6) :( 0Ÿ » 43 Microcystin (0Ÿ B-9 4Ÿ  
4b@M1E 138 &5 > (2018).

7> 5 0 4 Andrea R. J. Anas3 3 43 43  
B-9 4b@M1E 8Ÿ 138 &5 > (2018).

8> 5 0 4 Andrea R. J. Anas3 3 43 43 Microcystin (  
0Ÿe B-9 4ES0Z06 MlrE b0cE  
82 G&Ÿ (2017).

9> NEM 5 0Ÿ Andrea R. J. Anas3 3 LC/MS Ÿ  
S0Ÿ B-9 4b@M1E 42 GŸ  
0Ÿ (2017).

10< )0Ÿ » 43 Microcystin (0Ÿ B-9 4  
0Ÿ~3S0Ÿ 137 &Ÿ (2017).

11> 5 0Ÿ Andrea R. J. Anas3 3 43 43  
B-9 4b@M1E 7> 7> S0Ÿ 137 °  
&Ÿ (2017).

12> 5 0 Andrea R. J. Anas3 3 43 43  
B-9 4b@M1E 6>- - 137&Ÿ (2017).

13> 5 0 Andrea R. J. Anas3 3 43 43  
E Microcystin (0Ÿe B-9 4b@M1E 7cE 81 G&4c0> (2016).

14> 5 0 Anadrea R. J. Anas3 3 43 43  
B-9 4b@M1E — — 11 G0Ÿ  
& 9> (2016).

0Ÿ 0 Ÿ

0Ÿ

o 0 Ÿ

&8

