

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22658024

研究課題名（和文）多彩な能力を有するスフィンゴモナス細菌群のゲノムの可塑性とその構成原理の解明

研究課題名（英文）Genomic organization and genomic dynamism of versatile sphingomonads

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

研究成果の概要（和文）：スフィンゴモナス細菌群の代表株として、全ゲノム情報が判明し、分子遺伝学的手法が確立している有機塩素系殺虫剤 $\gamma$ -HCH 完全分解資化細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株、および本菌株に特異的な性質である $\gamma$ -HCH 分解に関与する *lin* 遺伝子群を主な実験材料として用い、UT26 株のゲノム動態に挿入配列 IS6100 が重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに、UT26 株以外の $\gamma$ -HCH 分解能を有するスフィンゴモナス細菌3株（MM-1株、MI1205株、TKS株）のドラフトゲノム解析を実施し、これらの株がそれぞれ独立に *lin* 遺伝子群を獲得して $\gamma$ -HCH 分解菌となったことを示唆する知見を得ると共に、スフィンゴモナス細菌特有のプラスミドの構造を明らかにした。また、その他環境細菌を材料とした関連研究も実施した。

研究成果の概要（英文）：gamma-Hexachlorocyclohexane (gamma-HCH) is a completely man-made chlorinated pesticide that has caused serious environmental problems due to its toxicity and long persistence in upland soils. In our previous study, the complete genome sequence of an archetypal gamma-HCH-degrading strain, *Sphingobium japonicum* UT26, was determined. The ‘specific’ *lin* genes (*linA* to *linE*) for the conversion of gamma-HCH to maleylacetate are dispersed on chromosome 1 (*linA*, *linB*, and *linC*) and a plasmid pCHQ1 (*linD* and *linE*) in the UT26 genome. IS6100 is often found in close proximity to the ‘specific’ *lin* genes not only in UT26 but also in other gamma-HCH-degrading strains. To get more insights into the appearance and evolution of gamma-HCH-degrading bacteria, the draft genome sequences of three other such strains, *Sphingomonas* sp. MM-1, *Sphingobium* sp. TKS, and *Sphingobium* sp. MI1205 (5), which were isolated at geographically different area with one another, were determined and compared with the complete genome sequences of UT26 and other closely related but non-gamma-HCH-degrading sphingomonad strains. All the former three gamma-HCH-degrading strains also have the ‘specific’ *lin* genes, but the location of such genes on their genomes are different from that on UT26, and for example, MM-1 carries such genes on three plasmids. Furthermore, genome contents and organizations of the four gamma-HCH-degraders are different with one another. These results suggested that these degraders had been created independently by lateral gene transfer of the ‘specific’ *lin* genes. Analysis of flanking regions of 13 copies of IS6100 in UT26 suggested the DNA exchanges between chromosome and plasmids via the IS6100 transposition. Our use of *sacB*-based IS entrapment technique indeed revealed the transposability of endogenous IS6100 in UT26. These results strongly suggested that IS6100 plays important roles in the dissemination of the ‘specific’ *lin* genes among gamma-HCH-degrading bacteria as well as in their genome rearrangements

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 22 年度	2,000,000	0	2,000,000
平成 23 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	360,000	3,560,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物

キーワード：微生物学

1. 研究開始当初の背景

化学合成により生産された有機塩素系殺虫剤 $\gamma$ -hexachlorocyclohexane ( $\gamma$ -HCH) および製造過程の副産物の HCH 各種異性体、DDT、ドリル剤などによる環境汚染は、先進諸国が使用を禁止している現在においても、残留汚染や一部地域で使用したものが地球レベルで拡散することにより、世界的に深刻な問題となっている。これら難分解性の環境汚染物質の多くは微生物による分解を受けると考えられているが、その過程の知見は極めて限られている。申請者らは、細菌能力の環境浄化への応用と細菌の新規化合物に対する適応・進化機構の解明を目的として、 $\gamma$ -HCH 分解資化細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株を対象とした研究を一貫して実施してきた (Nagata, Y. et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**, 741-752, 2007)。その結果、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、他の関連研究成果とも併せて、(i) UT26 株を含む sphingomonads (以下、スフィンゴモナス細菌群) と総称される  $\alpha$ -proteobacteria に属する細菌群には各種化学物質分解能やゲランガム等有用物質生産能など、多彩な能力を持つ菌株が含まれるが、それぞれの能力は個々の菌株に特化しており、本細菌群は「環境遺伝子プール」との活発な遺伝子交換を含む柔軟なゲノム構造を持つと考えられること (Nagata, Y. et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**, 741-752, 2007; 大坪ら, 化学と生物 **47**, 35-42, 2009)、(ii) ある種の挿入配列やプラスミドなどの可動性遺伝因子が本細菌群の菌株特異的能力の獲得に重要な役割を果たしていること (Fuchu, G. et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**, 627-632, 2008; Miyazaki, R. et al., *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 6923-6933, 2006)、が強く示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、(1) UT26 株のゲノムの可塑性と構成原理について詳細に解析し、スフィンゴモナス細菌群の「スペシャリスト」を産み出す柔軟なゲノム構造を規定する要因を明らかにすること、(2) 本菌株群において、「環境遺伝子プール」との遺伝子交換を直接担うと考えられる可動性遺伝因子の作用機構を明らかにすること、を通じて、普遍的な新しい生命原理を発見し、その成果を利用して、(3) 高度に難分解性の環境汚染物質分解遺伝子の取得を試み、「環境遺伝子プール」からの有用遺伝子取得法の開発へと結び付けることを目的とした。

スフィンゴモナス細菌群は、地球上の様々な環境に生息する主要な細菌群のひとつであり、かつモデル細菌とは著しく異なる独特なゲノムの複製・維持機構を有すると強く示唆されている (White, D.C. et al., *Curr. Opin. Biotechnol.* **7**: 301-306, 1996; 大坪ら, 化学と生物 **47**, 35-42, 2009; Stolz, A., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81**, 793-811, 2009)。したがって、本研究で得られる成果は、重要かつ普遍的な新しい生物学的原理の発見に結びつくこと期待できる。一方、自然環境中に棲息する細菌の多くは既存の手法では培養困難であり (Amann, R. et al., *Microbiol. Rev.* **59**, 143-169, 1995)、潜在的な微生物機能を従来の微生物学的手法で利用するのは難しい。また、培養を介さず取得した環境 DNA を扱うメタゲノム解析は有効な一手段ではあるが、現段階では膨大な塩基配列情報を直接「機能」と結び付けることはできないし、既存の「機能」ベースのメタゲノム手法も効率に問題があり、環境中での存在比率の低い遺伝子の取得は極めて困難である。すなわち、いわゆる「環境遺伝子プール」から、有用酵素遺伝子を効率的に取得する方法が模索されているのが現状であり、本研究成果は、潜在的微生物機能

を開発するための方法論のひとつとして、他分野への波及効果も大きい。

### 3. 研究の方法

(1) スフィンゴモナス細菌群のゲノムの基本的構成原理の解明

**(1-1)** UT26 株の複数染色体の複製・維持機構の解明：UT26 株は 3.5 Mb と 680 kb の 2 つの染色体 (それぞれ Chr 1 と Chr 2) と 191 kb の 1 つの巨大プラスミド pCHQ1 を有し、 $\gamma$ -HCH 分解に必要な *lin* 遺伝子群は、*linA*, *linB*, *linC* は Chr 1 に互いに離れて、*linD* と *linE* はオペロンとして制御遺伝子 *linR* と共にクラスターをなして pCHQ1 に、*linF* は Chr 2 に、と 3 つのレプリコンに散在している。既に決定済のゲノム配列情報から、これらレプリコンの複製維持に関する遺伝子および複製開始点の候補がある程度予測できるが、いずれも既知の当該遺伝子配列との相同性が低く、実際に機能しているかは不明である。そこで、それらの機能について、当該領域のミニレプリコンやそれらの変異体を作製するなどして、実験的検証を行うことで、UT26 の 3 つの主要レプリコンが安定に複製維持される機構を解明する。

**(1-2)**  $\gamma$ -HCH 分解遺伝子群の遺伝的動態に関する解析：UT26 株ゲノム中で、*linA*, *linC*, *linRED* クラスターは比較容易的に欠失を起こすこと、および pCHQ1 は、少なくとも UT26 株と類縁性の高い菌株へは接合伝達可能であることが申請者らのこれまでの研究から明らかになっている (Nagata, Y. et al., *FEMS Microbiol. Lett.* **256**, 112-118, 2006)。本研究では、まず、**(a)** 申請者らが既に取得済みで、*lin* 遺伝子に自然欠失変異を持つ UT26 株由来の数株の欠失領域を同定し、それらの変異様式を明らかにする。特に、変異箇所周辺領域に可動性遺伝因子関連遺伝子や繰り返し配列などの遺伝子再編成に関わることが予想される配列の存在の有無を詳細に検討する。また、スフィンゴモナス細菌群で全ゲノム配列が判明している数株と UT26 株の全ゲノム配列を比較し、これらに共通の配列と UT26 に特徴的な配列を明らかにする。一方、**(b)** UT26 株における通常培養条件下での *lin* 遺伝子群の遺伝的安定性の定量化と、不安定性を司る構造的要因について解析を行う。

**(1-3)** 環境変動を与えた際の UT26 株のゲノム変動様式の解明：細菌が環境変動のストレス下に曝された場合、可動遺伝因子を介したゲノム内遺伝子組換えや、細胞間の遺伝子交換を通じて新規能力を獲得したり、オペロンが形成される可能性が考えられる。本研究では、UT26 株をモデルとして、**(a)** 本菌株を実験室条件下で、**(i)** 高温、**(ii)** 貧栄養、**(iii)** 主要炭素源の変動、などの環境「ストレス」を

与え、ゲノム再編成の様式を追跡する。一方、**(b)** 様々な環境試料由来の微生物集団と、UT26 株の *lin* 遺伝子欠失変異株を混合し、*lin* 遺伝子あるいは同等の機能を担う新規遺伝子の水平伝播が起こるか、観察する。申請者らは、既に、HCH 汚染土壌由来の微生物集団と *linB* 欠失突然変異株を混合することで *linB* 遺伝子を有するプラスミド pLB1 の取得に成功しており (Miyazaki, R. et al., *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 6923-6933, 2006)、本研究では、類似の実験を、より網羅的・総合的に実施する。

(2) スフィンゴモナス細菌群特有の可動性遺伝因子に関する研究

近年の多種の細菌の全ゲノム解読によって、環境中では様々な形でのゲノム再編成が起こっていること、そしてそのゲノム再編成には、プラスミド、トランスポゾン、インテグロン、ゲノミックアイランドなどの可動性遺伝因子が深く関与していることが明らかになっている (津田雅孝・曾田匡洋, *蛋白質核酸 酵素*, **50**, 1527-1534, 2005)。本研究では、特に、スフィンゴモナス細菌群が人為起源物質分解能を獲得する際に機能していると考えられる、申請者らが取得済みの挿入配列とプラスミドについて詳細な解析を行うと共に、本申請研究の過程で新たに取得されることが予想される新規可動性遺伝因子についても解析を行う。

**(2-1)** スフィンゴモナス細菌群特有の可動性遺伝因子の基本的性質の解明：**(a)** 挿入配列：HCH 分解菌の *lin* 遺伝子群周辺領域には、高頻度で挿入配列 IS6100 が見出され、本挿入配列が *lin* 遺伝子群の環境中での伝播や、分解菌内での *lin* 遺伝子群の構成過程に深く関与していると示唆されている (Nagata, Y. et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**, 741-752, 2007)。また、UT26 株内の遺伝子再編成には IS*Spl* が関与していることが示唆されている (Miyachi, K. et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **69**, 216-219, 2005)。本研究においては、これら可動性遺伝因子の **(i)** 動的挙動が機能する宿主細胞の範囲、**(ii)** ターゲット配列、**(iii)** 動的挙動の活性化条件、等について検討を行う。**(b)** プラスミド：UT26 株が保有する 3 種のプラスミド (pCHQ1, pUT1, pUT2)、HCH 汚染土壌から培養非依存的な手法で取得したプラスミド pLB1 (Miyazaki, R. et al., *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 6923-6933, 2006)、申請者らが解析中の他の HCH 分解菌および HCH 分解コンソーシアムに存在する *lin* 遺伝子群を担う複数プラスミド、の基本的複製・維持機構、ならびに水平伝播能を有するものは、その水平伝播可能な宿主域と可動化の条件、について検討を行う。**(c)** 新規可動性遺伝因子：上記以外にも、UT26 株ゲノムには、

Tn3 型トランスポゾンなど、複数コピー存在する可動性遺伝因子が見出されている。また、(1-3)(b)において、新規可動性遺伝因子が取得されると予想される。これらの可動性とその分子機構について解析を行う。

(2-2) 土壤環境中での可動性遺伝因子の動的挙動の解明：申請者らの予備的実験で、非汚染の閉鎖系土壤（土壤マイクロコズム）に  $\gamma$ -HCH を添加すると数週間後に IS6100 が特異的に増幅する結果を得ている。既に少数存在していた IS6100-*lin*-IS6100 の構造を持つ  $\gamma$ -HCH 分解細菌が単純に増殖した可能性を否定できる結果も得ており、 $\gamma$ -HCH による汚染で、IS6100 の動的挙動が特異的に活性化されたと考えられる。本研究では、上記 (2-1) で解析するスフィンゴモナス細菌群特有の可動性遺伝因子の土壤環境中での動的挙動を総合的に検討する。

### (3) 高度難分解性環境汚染物質分解菌の創出

(1)(2)の研究項目から得られた知見を踏まえて、「環境遺伝子プール」からの有用機能遺伝子取得法の開発を見据えたモデル実験を実施する。具体的には、有効な分解菌および分解酵素遺伝子が知られていない  $\beta$ -HCH、DDT、ドリ剤などの高度難分解性有機塩素化合物分解細菌の創出を試みる。現段階で考えられる戦略としては、まず、「環境遺伝子プール」との遺伝子交換がより活発になることが期待される UT26 変異株を作製する。例えば、(i) 「環境遺伝子プール」との遺伝子交換に重要な役割を果たすと考えられる可動性遺伝因子自体のコピー数、あるいは、それらのターゲットとなりやすい部位を増やした株、(ii) UT26 株が元々保有しているプラスミドを欠落させ、外来のプラスミドをより取り込みやすくさせた株、などである。次に、これら変異株を様々な自然環境試料由来の微生物集団と土壤マイクロコズム等で培養し、上記物質分解能を獲得した株を選択する。その際、各種高度難分解性環境汚染物質を添加するなどの環境因子を与えると共に、温度、栄養条件、水分含量など、当該可動性遺伝因子の動的挙動が活性化するために最適な条件で培養を行う。分解菌が得られた場合には、再現性や頻度について検討を行い、より一般性の高い「環境遺伝子プール」からの有用遺伝子取得法を確立する。

## 4. 研究成果

上記研究を実施し、スフィンゴモナス細菌ゲノムの基本的構成原理に関する重要な知見を得ると共に、ゲノムの再編成における挿入配列 IS6100 の具体的な関与様式を明らかにすることが出来たため、研究の目的はおお

むね達成できたと考えている。ただし、実際に「環境遺伝子プール」から有用遺伝子を取得するまでには至らなかった。今後は、本研究で得た基礎的知見を利用し、実際に「環境遺伝子プール」から有用遺伝子を取得する研究を展開したいと考えている。本研究の成果には、現時点ではまだ学会誌などに未発表のものも含まれるが、これらについては今後発表していく予定である。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。

以下に、本研究で得られた主な成果をまとめた。その他環境細菌を材料とした関連研究の成果については割愛する。

(1) UT26 株が有する主染色体以外の 4 つのレプリコンは、Chr 2 と pCHQ1 が *repABC* family plasmid、pUT1 が iteron-type plasmid、pUT2 が IncP-9/pM3 family plasmid と類似の複製装置を有することが明らかになった。しかし、既知のものとの類似性は低く、こらレプリコンが  $\alpha$ -proteobacteria、特に、sphingomonads 特有のものであることが強く示唆された。すなわち、これら sphingomonads 特有のレプリコンが sphingomonads の新規能力獲得に重要な役割を果たしていると考えられる。

(2) *linA*、*linC*、*linRED* 自然欠失変異株の欠失様式を精査した結果、*linA* は両脇に同一方向に 2 コピー存在する IS6100 の homologous recombination で、*linC* は上流に存在する IS6100 が下流に転移する過程で、それぞれ欠失したことが明らかになった。また、*linRED* に関しては、予想外の組換えが生じており、詳細な欠失機構を明らかにすることはできなかったが、*linRED* クラスター上流に存在する IS6100 が欠失の境界の一端となっていた。以上、*lin* 遺伝子群の欠失に IS6100 が直接的に関与することが明らかとなった。

(3) UT26 株ゲノムには 15 種類、合計 45 コピーの IS が存在する。これら IS の菌体内での転移を検出するために、*sacB* 遺伝子を有する広宿主域プラスミド pGEN500 を用いた IS entrapment 法を UT26 株に適用した。その結果、本系が UT26 株に有効であることが確認されると共に、IS*Spl1*、IS6100、IS*Sj12*、および Tn3 型トランスポゾンの転移が確認された。

(4) UT26 株中に 13 コピー存在する IS6100

の末端配列を精査した結果、UT26 株内で IS6100 を介したレプリコン間の解離・融合が生じた痕跡が確認された。

(5)  $\gamma$ -HCH 分解細菌 *Sphingomonas* sp. MM-1 株では、UT26 株とは異なり、HCH 代謝系に特異的な *lin* genes (*linA*~*linF*) の全てが、*sphingomonads* 特有の複数のプラスミド上に散在することが明らかになった。

(6) 系統的に UT26 株と異なる  $\gamma$ -HCH 分解細菌 *Sphingomonas* sp. MM-1 株、*Sphingobium* sp. MI1205 株、*Sphingobium* sp. TKS 株のドラフトゲノム配列を決定し、UT26 株および類縁の *sphingomonads* 株ゲノムと比較した結果、特定の  $\gamma$ -HCH 分解細菌が環境中で流布したのではなく、それぞれの独立した環境中で「同時多発的に」 $\gamma$ -HCH 分解細菌が生じた可能性が示唆された。また、それには *sphingomonads* 特有のプラスミドと IS6100 が重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

#### 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 16 件)

- ① Nagata, Y., S. Natsui, R. Endo, Y. Ohtsubo, N. Ichikawa, A. Ankai, A. Oguchi, S. Fukui, N. Fujita, and M. Tsuda. Genomic organization and genomic structural rearrangements of *Sphingobium japonicum* UT26, an archetypal gamma-hexachlorocyclohexane-degrading bacterium. *Enzyme and Microbial Technology* **49**: 499-508 (2011) (査読有り)
- ② Chaloupkova, R., Z. Prokop, Y. Sato, Y. Nagata, and J. Damborsky. Stereoselectivity and conformational stability of haloalkane dehalogenase DbjA from *Bardyrhizobium japonicum* USDA110: the effect of pH and temperature. *FEBS J.* **278**: 2728-2738 (2011) (査読有り)
- ③ Prudnikova, T., R. Chaloupkova, Y. Sato, Y. Nagata, O. Degtjarik, M. Kutý, P. Rezacova, J. Damborsky, and I. Kuta Smananova. Development of a crystallization protocol for the DbeA1 variant of novel haloalkane dehalogenase from *Bradyrhizobium elkkani* USDA94. *Cryst. Growth & Design* **11**: 516-519 (2011) (査読有り)
- ④ Hasan, K., A. Fortova, T. Koudelakova, R. Chaloupkova, M. Ishitsuka, Y. Nagata, J. Damborsky, and Z. Prokop. Biochemical characteristics of the novel haloalkane dehalogenase DatA isolated from the plant pathogen *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Appl. Environ. Microbiol.* **77** (5): 1881-1884 (2011) (査読有り)
- ⑤ Tabata, M., R. Endo, M. Ito, Y. Ohtsubo, A. Kumar, M. Tsuda, and Y. Nagata. The *lin* genes for  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane degradation in *Sphingomonas* sp. MM-1 proved to be dispersed across multiple plasmids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **75** (3): 466-472 (2011) (査読有り)
- ⑥ 佐藤優花里、夏目亮、Zbynek Prokop, Jan Brezovsky, Radka Chaloupkova, Jiri Damborsky, 永田裕二、千田俊哉 ハロアルカン脱ハロゲン酵素 DbjA の鏡像異性体選択性機構の解明 日本結晶学会誌 **53**: 124-129 (2011) (査読有り)
- ⑦ Nagata, Y., Y. Ohtsubo, R. Endo, N. Ichikawa, A. Ankai, A. Oguchi, S. Fukui, N. Fujita, and M. Tsuda. Complete genome sequence of the representative  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium *Sphingobium japonicum* UT26. *J. Bacteriology* **192**: 5852-5853 (2010) (査読有り)
- ⑧ 大坪嘉行、大坪和香子、永田裕二、津田雅孝 ゲノム解析ソフトウェア GenomeMatcher 化学と生物 **48** (5): 313-319 (2010) (査読有り)
- ⑨ 永田裕二 環境バイオテクノロジー学会シンポジウム「生態機能と環境保全」微生物生態学会誌 **25** (2): 77-78 (2010) (査読なし)
- ⑩ 永田裕二 特集「生態機能と環境保全」に寄せて 環境バイオテクノロジー学会誌 **10** (2): 52 (2010) (査読なし)
- ⑪ 加藤広海、大坪嘉行、永田裕二、津田雅孝 芳香族化合物による土壌攪乱における微生物遺伝子プールの変動 環境バイオテクノロジー学会誌 **10** (2): 63-70 (2010) (査読有り)
- ⑫ Okai, M., K. Kubota, M. Fukuda, Y. Nagata, K. Nagata, and M. Tanokura. Crystal structure of

$\gamma$ -hexachlorocyclohexane dehydrochlorinase LinA from *Sphingobium japonicum* UT26. J. Mol. Biol. **403**: 260-269 (2010) (査読有り)

- ⑬ **Yano, H., M. Miyakoshi, K. Ohshima, M. Tabata, Y. Nagata, M. Hattori, and M. Tsuda.** Complete nucleotide sequence of TOL plasmid pDK1 provides evidence for evolutionary history of IncP-7 catabolic plasmids. J. Bacteriol. **192**: 4337-4347 (2010) (査読有り)
- ⑭ **Prokop, Z., Y. Sato, J. Brezovsky, T. Mozga, R. Chaloupkova, T. Koudelakova, P. Jerabek, V. Stepankova, R. Natsume, J. G.E. van Leeuwen, D. B. Janssen, J. Florian, Y. Nagata, T. Senda, and J. Damborsky.** Enantioselectivity of Haloalkane Dehalogenases and its Modulation by Surface Loop Engineering. Angewandte Chemie. **49**: 6111-6115 (2010) (査読有り)
- ⑮ **Nishiyama, E., Y. Ohtsubo, Y. Nagata, and M. Tsuda.** Identification of *Burkholderia multivorans* ATCC 17616 genes induced in soil environment by in vivo expression technology. Environmental Microbiology **12**(9): 2539-2558 (2010) (査読有り)
- ⑯ **Matsushima, R., H. Danno, M. Uchida, K. Ishihara, T. Suzuki, M. Kaneniwa, Y. Ohtsubo, Y. Nagata, and M. Tsuda.** Analysis of extracellular alginase and its gene from a marine bacterial strain, *Pseudoalteromonas atlantica* AR06. Appl Microbiol Biotechnol. **86**: 567-576 (2010) (査読有り)

[学会発表] (計 89 件)  
(招待講演等、主な発表 15 件を記載)

- ① 大畑智史ら, 有機塩素系殺虫剤 gamma-hexachlorocyclohexane 分解能を有する *Sphingobium* sp. TKS 株のゲノム解析, 第 6 回日本ゲノム微生物学会年会, 平成 24 年 3 月 10-12 日, 東京・立教大学
- ② Michiro Tabata et al., Structural analysis of plasmids for gamma-hexachlorocyclohexane degradation in *Sphingomonas* sp. MM-1, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sep. 6-10, 2011, Sapporo, Japan

- ③ 田端理朗ら, 有機塩素系殺虫剤 gamma-hexachlorocyclohexane 分解細菌 *Sphingomonas* sp. MM-1 株が保持する分解関連プラスミドの塩基配列解析と機能解析, 日本ゲノム微生物学会ワークショップ, 平成 23 年 8 月 20-21 日, 仙台・東北大学
- ④ 川角徹ら, 有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane (HCH) 分解機能を担う集積培養細菌叢に関する研究, 日本農芸化学会 2011 年度大会, 平成 23 年 3 月 26~28 日, 京都・京都女子大学
- ⑤ 西岡ましほら, 有機塩素系殺虫剤 gamma-HCH 分解細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株内で転移する挿入配列検出系の構築, 日本農芸化学会 2011 年度大会, 平成 23 年 3 月 26~28 日, 京都・京都女子大学
- ⑥ 川角徹ら, 液体集積培養系における有機塩素系殺虫剤 gamma-hexachlorocyclohexane 分解能を担う細菌株群に関する研究, 第 5 回日本ゲノム微生物学会, 平成 23 年 3 月 14~16 日, 仙台・東北学院大学
- ⑦ 田端理朗ら, 有機塩素系殺虫剤 gamma-hexachlorocyclohexane 分解細菌 *Sphingomonas* sp. MM-1 株が有する分解関連プラスミドの機能解析, 第 5 回日本ゲノム微生物学会, 平成 23 年 3 月 14~16 日, 仙台・東北学院大学
- ⑧ 西岡ましほら, 有機塩素系殺虫剤 gamma-HCH 分解細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株内にて転移する挿入配列検出系の構築, 第 5 回日本ゲノム微生物学会, 平成 23 年 3 月 14~16 日, 仙台・東北学院大学
- ⑨ 永田裕二, 人為起源の環境汚染物質分解能を有する細菌ゲノムのダイナミズム, 理研シンポジウム「微生物研究の潮流とそれを支えるリソース基盤」, 平成 23 年 3 月 11 日, 和光・理研
- ⑩ Nagata, Y. et al., Aerobic degradation of lindane ( $\gamma$ -hexachlorocyclohexane) in *Sphingobium japonicum* UT26 and its biochemical and molecular basis, "Indo-Swiss-Collaboration in Biotechnology" International Conference "Recent Trends in Developing Bioremediation Strategies for Hexachlorocyclohexane (HCH) & Other Chlorinated Contaminants", February 9-11, 2011, Delhi, India
- ⑪ Nagata, Y. et al., Genomic organization and its

structural dynamism of *Sphingobium japonicum* UT26, an archetypal  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium, "Indo-Swiss-Collaboration in Biotechnology" International Conference "Recent Trends in Developing Bioremediation Strategies for Hexachlorocyclohexane (HCH) & Other Chlorinated Contaminants", February 9-11, 2011, Delhi, India

- ⑫ Nagata, Y. et al., Organization and dynamism of gamma-hexachlorocyclohexane-degrading bacterium *Sphingobium japonicum* UT26 genome, 14th International Biotechnology Symposium and Exhibition Biotechnology for the Sustainability of Human Society, 14-18 September 2010, Rimini, Italy
- ⑬ 川角徹ら, Hexachlorocyclohexane (HCH) 異性体汚染土壌由来の有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -HCH 分解細菌叢の解析, 環境バイオテクノロジー学会 2010 年度大会, 平成 22 年 6 月 21-22 日, 仙台・東北大学
- ⑭ 夏井俊介ら, 有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -HCH 分解細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株における挿入配列 IS6100 を介したゲノムの動態, 環境バイオテクノロジー学会 2010 年度大会, 平成 22 年 6 月 21-22 日, 仙台・東北大学
- ⑮ 田端理朗ら, 有機塩素系殺虫剤  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane ( $\gamma$ -HCH) 分解細菌 *Sphingomonas* sp. MM-1 株が有する  $\gamma$ -HCH 分解関連プラスミドの解析, 環境バイオテクノロジー学会 2010 年度大会, 平成 22 年 6 月 21-22 日, 仙台・東北大学

[図書] (計 2 件)

- ① 永田裕二、津田雅孝 脱ハロゲン酵素「酵素利用技術体系」pp 939-948 エス・ティー・エス (2010) 4 月 16 日発行
- ② 永田裕二、津田雅孝 環境汚染物質分解細菌のメタゲノミクス「難培養性微生物研究の最新技術 II」大熊盛也、工藤俊章編集 pp 211-219 シーエムシー出版 (2010) 4 月 9 日発行

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

研究室のホームページ

<http://www.ige.tohoku.ac.jp/joho/index.html>

## 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所・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所・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所・助教

研究者番号：40342761