

VII-19

有機水銀分解能を持つ *Bacillus* 属細菌が保有する水銀耐性 トランスポゾンの解析と水銀除去能に関する研究

東北学院大学工学部 学生員 ○西澤 博・平 義弘

東北学院大学工学部 学生員 成田 勝

東北学院大学工学部 フェロー員 遠藤 銀朗

1. はじめに

近年、有害物質等を含んだ廃水や廃棄物などによる著しい環境汚染が引き起こされている。なかでも有害重金属である水銀による環境汚染は、かつて熊本県の水俣湾周辺で発生した水俣病や新潟県の阿賀野川流域で発生した第二水俣病のように、人間の健康や生態系に大きな影響を与えている。このため、水銀耐性細菌を利用した生物学的環境汚染修復技術を開発することを目的として研究が進められてきている。以前、本研究室では水銀に汚染された当時の水俣湾の底泥からグラム陽性水銀耐性細菌 *Bacillus megaterium* MB1 株を分離した¹⁾。この *B. megaterium* MB1 株の保有する水銀耐性オペロン (*mer* オペロン) は、転移因子であるクラス II トランスポゾン上にコードされていることが明らかとなった¹⁾。このことから、細菌間における水銀耐性遺伝子の水平伝達の可能性が考えられた。しかしながら、*B. megaterium* MB1 株と全く同一の *mer* オペロンを保有するグラム陽性水銀耐性細菌 *Bacillus cereus* RC607 株および *Bacillus cereus* VKM684 株がこの *mer* オペロンをクラス II トランスポゾン上にコードしているかどうかについてはまだ明らかにされていない。本研究においては、*B. cereus* RC607 株と *B. cereus* VKM684 株を用いて水銀耐性クラス II トランスポゾンの探索と解析およびこれらの細菌株を用いた水銀除去能の評価に関する研究を行ったので報告する。

2. 実験材料および実験方法

(1) 供試細菌株

グラム陽性水銀耐性細菌 *Bacillus megaterium* MB1 株、*Bacillus cereus* RC607 株、*Bacillus cereus* VKM684 株およびグラム陽性水銀感受性細菌 *Bacillus subtilis* 168 株の 4 細菌株を使用した。

(2) クラス II トランスポゾンの探索と解析

B. cereus RC607 株および *B. cereus* VKM684 株の保有する *mer* オペロンがクラス II トランスポゾン上にコードされているかを知るために、これらの細菌の染色体 DNA を鋳型として Long PCR 法によってクラス II トランスポゾン領域の増幅を試みた。また、得られた PCR 産物の制限酵素地図の作成し、相同性を解析した。

(3) 各水銀化合物に対する水銀除去能の評価

無機水銀化合物として塩化第二水銀 (HgCl_2)、有機水銀化合物として塩化エチル水銀 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{HgCl}$) をそれぞれ用いて各細菌株の水銀除去能を評価した。水銀除去能の評価は、還元気化法によるフレイムレス原子吸光計 (SP-3D, Nippon Instruments Co., Tokyo, Japan) を使用して、培養液中の水銀残存量を測定した。測定は、水銀添加 LB 液体培地での培養直後 (0 時間) および 4、8、12、16、24、36、48 の各培養経過時間に行った。

3. 実験結果および考察

(1) クラス II トランスポゾンの探索と解析結果

クラス II トランスポゾン領域を標的として Long PCR 増幅を行った結果、*B. cereus* RC607 株と *B. cereus* VKM684 株は 11.5kbp の DNA サイズで増幅された。これらの増幅された PCR 産物の制限酵素地図を作成した結果 (Fig. 1)、この 2 株の保有する *mer* オペロンはクラス II トランスポゾン上にコードされていることが明らかとなった。

(2) 各水銀化合物に対する水銀除去能の評価結果

Fig. 2 に各細菌株における塩化第二水銀 (MC) と塩化エチル水銀 (EMC) に対する水銀除去能の評価結果を示す。無機水銀化合物である MC を添加した場合、*B. cereus* RC607 株は 8 時間程度で約 80% の除去率を示したのに対し、*B. megaterium* MB1 株は約 30% しか除去率を示さなかった。しかしながら、24 時間以降は 3 細菌株

ともほぼ同じ除去率を示した。特に、アルキル水銀化合物である EMC を添加した場合、3 株とも培養後 8 時間で約 95%の除去率が観察された。アルキル水銀化合物は他の有機水銀化合物に比べ毒性が高いことが知られているが、このような高い除去能力はこれらの細菌における *mer* オペロンの機能によるものと考えられる。

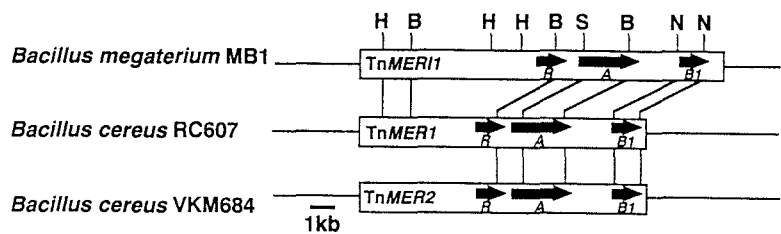


Fig. 1 *B. megaterium* MB1 株, *B. cereus* RC607 株, および *B. cereus* VKM684 株のトランスポゾン領域の制限酵素地図。

略語表記: B; *Bgl*III, E; *Eco*RI, H; *Hind*III, N; *Nco*I, S; *Sma*I, Ps; *Pst*I, Pv; *Pvu*II.

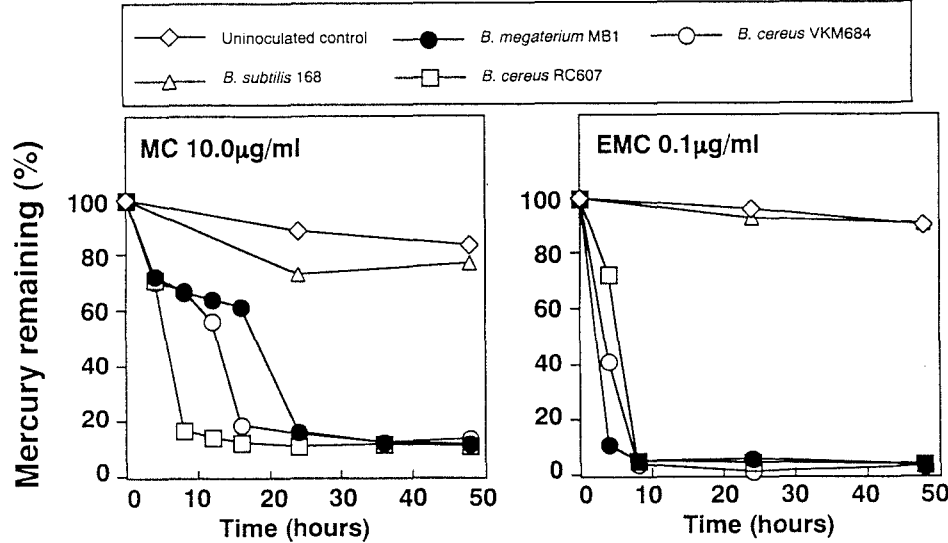


Fig.2 各水銀化合物の水銀除去能の評価結果

4. おわりに

B. megaterium MB1 株, *B. cereus* RC607 株および *B. cereus* VKM684 株は同一の *mer* オペロンを全く同じ IR 配列を持つクラスⅡトランスポゾン上にコードしていることが明らかとなった。この結果はクラスⅡトランスポゾンを介して同一の *mer* オペロンが細菌種および株を越えて水平伝達されたことを示すものと考えられる。また、これら 3 細菌株が各水銀化合物を効率よく除去できたことは、生物学的水銀除去技術を開発する上で有用であると考えられる。

本研究は科学事業振興事業団の戦略的基礎研究推進事業の一つとしてなされたことを付記し感謝する。

参考文献

1) Huang, C.-C. *et al.* 1999. *Gene* 234: 361-369.