

講演番号：2A01a10

講演日時：3月16日 10:49～ 共通講義棟北 A01 会場

微生物腐食対策のための金属腐食性 *Prolixibacter* 属細菌検出系の構築

Evaluation of PCR primers of 16S rRNA gene for the detection of iron-corroding *Prolixibacter*.

○飯野 隆夫<sup>1</sup>、伊藤 公夫<sup>2</sup>、大熊 盛也<sup>1</sup> (<sup>1</sup>理研 BRC-JCM、<sup>2</sup>新日鐵住金)

○Takao Iino<sup>1</sup>, Ito Kimio<sup>2</sup>, Ohkuma Moriya<sup>1</sup> (<sup>1</sup>RIKEN BRC-JCM, <sup>2</sup>Nippon Steel and Sumitomo Metal Corp.)

【目的】微生物作用により金属材料が腐食する微生物腐食は、予測が困難な上、急速かつ局所的に腐食が生じるため、金属腐食問題の中でも特に問題が深刻化しており、原因菌の特定や効果的な防食対策が喫緊に求められている。この問題に対して、我々は未知種であった *Prolixibacter denitrificans* MIC1-1 株が既存のメカニズムとは異なり、硝酸還元を介して金属腐食を引き起こすことを明らかにした<sup>1)</sup>。微生物腐食を未然に防ぐためには、原因菌の種多様性の把握や検出技術の構築が必須であるが、*Prolixibacter* 属細菌は 2 種 2 株しか存在せず知見が皆無である。本研究は、新たな金属腐食性 *Prolixibacter* 属細菌の分離・培養と PCR による *Prolixibacter* 属細菌検出系の構築を目的とした。

【方法】日本各地の原油などを収集し、*Prolixibacter* 属細菌の純粋分離を行った。金属鉄 (Fe<sup>0</sup>) を含む人工海水培地に供試菌株を接種し、25°C にて 30 日間培養を行なった。培養後、試験液中の溶出鉄量を定量し、鉄腐食能の有無を解析した。続いて、分離株を含む *Prolixibacter* 属細菌 6 株の 16S rRNA 遺伝子塩基配列のアライメントを行い、*Prolixibacter* 属細菌に特異的なプライマーを作製した。分離株と工場用水から染色体 DNA を抽出し、作製したプライマーを用いて PCR を行った。

【結果および考察】4 株の *Prolixibacter* 属細菌を新たに純粋分離した。16S rRNA 遺伝子塩基配列解析を行った結果、3 株 (AT004 株, KGS048 株, NT017 株) は *P. denitrificans* と 99.8-99.2% の高い相同性を得た。残る 1 株 (SD074 株) は既知の 2 種と 95.8-97.0% の相同性しかなく、*Prolixibacter* 属第 3 の種と考えられる。これら分離株のうち、NT017 株を除く 3 株が硝酸塩存在下で金属鉄を腐食した。このことから、*Prolixibacter* 属細菌の金属腐食能は株固有の能力でありながら、種間横断的に保有されることが明らかとなった。*Prolixibacter* 属細菌特異的プライマーを用いて、培養株の DNA を鋳型に PCR を行った結果、*Prolixibacter* 属細菌 6 株全てから単一の遺伝子断片の増幅が確認され、近縁種である *Mangrovibacterium diazotrophicum* JCM 19152<sup>†</sup> などからは増幅がなかった。よって、作製したプライマーは *Prolixibacter* 属に特異性が高いことを確認した。工場用水由来の染色体 DNA を鋳型に PCR を行った結果、目的とする単一の遺伝子断片の増幅が確認され、供試した工場用水に *Prolixibacter* 属細菌が存在することが明らかとなった。現在、作製したプライマーセットを利用した定量化に向けた準備を整えている。安価かつ迅速な解析方法である PCR/定量 PCR 解析は原因菌検出および腐食リスク評価を可能にする実現場での定期予防診断技術として期待できる。

1) Iino, T. *et al.* (2015) *Appl. Environ. Microbiol.*, 81, 1839.

microbiologically influenced corrosion, iron corrosion, nitrate reduction

発表責任者：飯野隆夫 (iino@riken.jp)