

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	放線菌の潜在能力の覚醒による新規βケトアジピン酸経路の発掘				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	鮒 信学
	研究分担者	所属・職名	東京大学大学院・農学生命科学研究科・特任准教授	氏名	原 啓文
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	鮒 信学

講演題目	放線菌の潜在能力の覚醒による新規βケトアジピン酸経路の発掘
------	-------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

【目的】
 土壌放線菌 *Rhodococcus jostii* RHA1 はβ-ケトアジピン酸経路により芳香族化合物を異化するため、バイオレメディエーションに利用されている。CatABC はβ-ケトアジピン酸経路の酵素であり、Cata は catechol を muconate (1) に、CatB は 1 を (S)-muconolactone (2) に、CatC は 2 を β-ketoadipate enol-lactone (3) にそれぞれ変換する。ΔcatC 株は、benzoate を炭素源とする培養において、2→3 が遮断されているため生育しない。しかしながら、継続・継代培養したΔcatC株(覚醒株)は benzoate (catechol の前駆体) を唯一の炭素源として生育できることを見いだしている。本研究では、覚醒株における 2 から分岐する新規異化経路の発見、また、それを担う酵素遺伝子を探索する。本研究課題の目的は、*R. jostii* RHA1 に潜在的に備わっている 2→γ-hydroxymaleyl acetate (4) →maleyl acetate (5) →β-ketoadipate (6) の経路を特殊な培養により覚醒させ、4 および 5 の生産の基盤を構築することである。

【方法および結果】
 覚醒株は、*R. jostii* を benzoate を炭素源とする液体培養により取得した。我々はΔcatC株を再取得し、本実験の再現性を試験した。その結果、ΔcatC株の培養 10 日目から再現性良く覚醒株が出現することが判明した。また、覚醒株の継代培養により、生育が安定した株(順化株)を育種することに成功した。順化株は、*R. jostii* 親株と比べ、遜色なく生育した。

覚醒株の培養上清を LC-MS にて分析したところ、4 および 5 を見出した。また、親株からは 4、5 が検出されないことを確認した。以上より、覚醒株/順化株では、新規分岐経路 2→4→5→6 が発現していることが示唆された。さらに、順化株と親株の細胞抽出液を SDS 分析したところ、親株では発現していない、順化株にしか存在しない蛋白質が発現していることを確認した。そこで、順化株の細胞抽出液を分画し、2 の異化能を試験したところ、一部の画分で 2 が消失することが判明した。なお、親株の画分からはこの反応は検出されない。

【今後の展望】
 今後、順化株の画分の、2 を異化する因子が 2→4 の反応に関与することを、反応生成物の構造決定により証明する。また、SDS 上の順化株に特異的なバンドのトリプシン消化を行い、LC-HRMS、Mascot を用いて、同定を行うことで、2→4 の反応を触媒する酵素を同定し、新規分岐経路 2→4→5→6 の存在を明らかにする。