



Expression of *Rhodococcus opacus alkB* genes in anhydrous organic solvents

有機溶媒中における *Rhodococcus opacus* B-4 の
アルカンモノオキシゲナーゼ遺伝子 *alkB* の発現

(JBB, Vol.106, No.2, 199–203, 2008)

鮫島 結香^{1*}・本田 孝祐²・加藤 純一³・大政 健史²・大竹 久夫²

本研究で著者らが研究材料とした細菌 *Rhodococcus opacus* B-4 はきわめて疎水性の高い細胞表層構造を有し、水・有機溶媒混合液中で有機相に偏向する特徴を有する。また湿潤状態で水を含まない有機溶媒に分散可能である（この特徴がいかにユニークなものであるか、ぜひ研究室にお持ちの微生物湿菌体を有機溶媒に懸濁することに挑戦していただきたい）。これらの特徴から本菌は、有機相に溶け込んだ難水溶性物質に対する高い接触効率を有し、非水系バイオプロセスのキーツールとして期待されている^{1,2)}。

これまでの研究により、有機溶媒に懸濁した *R. opacus* B-4 は、脂溶性炭素源（長鎖脂肪酸など）や酸素の消費能を有し、少なくとも異化代謝活性を維持していることが確かめられていた¹⁾。

本研究では *R. opacus* B-4 のアルカンモノオキシゲナーゼプロモーター制御下に GFP をレポーターとして連結した組換え株を用い、水（0.85% NaCl 溶液）、有機溶媒（フタル酸ビス）のそれぞれに懸濁した菌体に対して、直鎖状アルカンを誘導物質としたレポーターアッセイを行った。この結果、有機溶媒中でも各種アルカンに応答した GFP の発現上昇が認められ、*R. opacus* B-4 がこの状態でもタンパク質生産能を維持していることが示された。有機溶媒中では、細胞構成成分の合成に必要な各種元素の供給が難しいことから、主としてサルベージ合成によるタンパク質生産が進んでいるものと考えられるが、このようなシビアな環境下でも微生物が同化を含めた代謝活性を維持していることは注目すべき結果といえよう。

また各種アルカンにより誘導される GFP 発現量は、水系・有機溶媒系で大きく異なっていることも明らかと

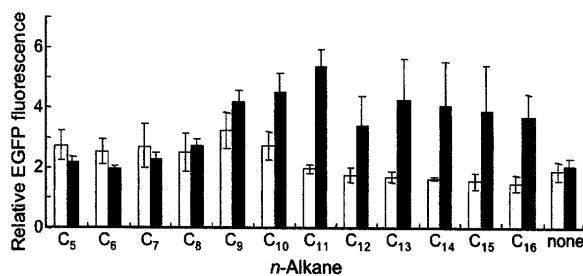


図1. 鎖長の異なる各種 *n*-アルカン添加24時間後の GFP 強度。水系（白）、有機溶媒系（黒）。

なった（図1）。過去の研究の多くにおいて、難水溶性化合物を誘導物質とした発現解析は、主として水系反応液中で実施されてきた。当然のことながら、水系反応液中における誘導物質の実効濃度はこれらの蒸気圧や水溶度に大きく左右される。一方、有機溶媒中ではその影響を最小限に抑えることができることから、より正確にこれらの物質が及ぼす誘導効果を定量化できていると考えられる。本研究で明らかにされた水系・有機溶媒系反応液中における発現パターンの大きな差異は、難水溶性化合物に対する生体応答に関する過去の知見に一石を投じるものであった。

以上のとおり、本研究は非水環境下での微生物のふるまいを分子レベルで追及したものであり、水の中では見られなかった微生物の新たな横顔を垣間見せるものである。本研究の成果が足がかりとなり、これまで水系反応場に限定されてきた微生物利用のフィールドが有機溶媒中にまで拡大されることが期待される。

- 1) Yamashita, S. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **74**, 761 (2007).
- 2) Hamada, T. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **108**, 116 (2009).

* 著者紹介 ¹ 九州大学大学院理学研究院化学部門（学術研究員） E-mail: yuka_sameshima@chem.kyushu-univ.jp
² 大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻, ³ 広島大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻