

403 リグニン分解細菌 *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6 株の
プロトカテク酸メタ開裂系脱水素酵素遺伝子の構造と機能解析
○百瀬清隆、政井英司、西川誠司*、片山義博**、福田雅夫
(長岡技大・生物、*コスモ総研、**農工大・BASE)

【目的】 *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6 は多様なリグニン2量体化合物を特異的分解酵素系によってプロトカテク酸(PCA)へと変換することから、PCA は本株のリグニン分解で重要な中間代謝物であると考えられる。PCA は SYK-6 によりメタ開裂経路で代謝されるが、本経路の遺伝学的解析例は他にも見られないため、PCA メタ開裂系遺伝子の構造と機能の解明が望まれる。本研究では特に PCA の環開裂後に生じる 4-carboxy-2-hydroxymuconate-6-semialdehyde (CHMS)を 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid (PDC) に変換する CHMS dehydrogenase に着目して、その遺伝子の構造と機能を解析した。

【方法と結果】 PCA 4,5-ジオキシゲナーゼ遺伝子(*ligAB*)を含む 10.5-kb *Eco*RI 断片の *ligB* 下流に CHMS dehydrogenase 遺伝子(*ligC*)の部分領域の存在が示唆された。*ligC* 全長を含むクローニングを遺伝子ライブラリーから単離し、*ligB* 下流の約 2.6-kb の塩基配列を決定した。その結果、*ligC* と推定される 945 bp の open reading frame が *ligB* の 295 bp 下流に存在した。一方、*ligC* を大腸菌で発現させたところ、約 40 kDa の蛋白質の生産が見られ、この蛋白質が NAD⁺および NADP⁺に依存して CHMS dehydrogenase 活性を示すことが明らかとなった。

Cloning, sequencing, and expression of 4-carboxy-2-hydroxymuconate-6-semialdehyde (CHMS) dehydrogenase gene from *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6.

○Kiyotaka Momose, Eiji Masai, Seiji Nishikawa,* Yoshihiro Katayama,** and Masao Fukuda.
(Dept. Bioeng, Nagaoka Univ. Technol. *Cosmo Res. Inst. **Tokyo Univ. Agric. Technol, BASE.)

【Key Word】 dehydrogenase, lignin biodegradation, *meta*-fission pathway, protocatechuate

404 連続運転ゴミ処理装置中の微生物叢
(1東大院・応生工、2東大院・分生研、3東京ガス、4信州大・繊維)
Mannix Pedro¹、林 信博¹、横田 明²、向井隆司³、O石井正治¹、
児玉 徹⁴、五十嵐泰夫¹

＜目的＞都市部におけるゴミの量は急激に増加し続けているため、その減量化対策が望まれている。都市ゴミの中でも我々は有機性ゴミに着目している。有機性ゴミは消却あるいは埋め立てによる処理が可能であるが、ゴミの軽減化だけでなく将来コンポスト化も可能であるという点で、微生物処理法が極めて重要な手法と考えられる。今回は連続運転されている東京ガス株式会社の処理機における微生物叢について知見を加えることを目的とした。

＜方法及び結果＞安定運転されている生ゴミ処理機からサンプリングを行い、処理機中の微生物を単離した。10株が単離され、形態学的、化学分類学的性質を調べた結果、10株とも *Bacillus* 属であることが示された。また Biolog system によって単離された株の種を検討したところ、*B. coagulans*、*B. megaterium*、*B. brevis*、*B. licheniformis*、*B. pasteurii* と同定された。さらにこれら 10 株の 16S rDNA をクローニングし、塩基配列を決定した。これらの配列から近隣結合法により分子系統樹を作製し、分子系統学的考察を加えた。

Microflora in a continuously driven composter.

¹Mannix Pedro, ¹Nobuhiro R. Hayashi, ²Akira Yokota, ³Takashi Mukai, ¹Masaharu Ishii,

⁴Tohru Kodama ¹Yasuo Igarashi (¹Dept. Biotechnol., Univ. of Tokyo, ²Institute of Mol. Cellul. Biosci., Univ. of Tokyo, ³Tokyo Gas Co., ⁴Faculty of Textile Sci. and Tech., Shinshu Univ.)

＜Key Words＞ Composting, 16S rDNA, *Bacillus* sp.