

S 25 アルカン資化酵母のチトクロームP450多重遺伝子群の解析  
(東大・農・応生工) ○太田明德、高木正道

【目的】炭化水素鎖（アルカン）を炭素源として生育できる酵母は *Candida maltosa*、*Candida tropicalis*、*Yarrowia lipolytica* など多種知られている。これらの酵母ではアルカン末端から始まる酸化の初発反応をヘムを含むモノオキシゲナーゼであるチトクロームP450によって行う。このチトクロームP450はCYP52ファミリーに属し、酵母細胞内では小胞体膜に結合して存在する。しかしながら、以降の炭化水素鎖の酸化はパーオキシソームにおける $\beta$ 酸化系によって行われる。このタイプのチトクロームP450は安定な炭化水素末端を酸化するユニークな性質を有し、長鎖ジカルボン酸などの化成品材料の発酵生産に役立つなど、産業上有用な酵素である。従って、本酵素がどのような性質を有し、またどのような遺伝的支配を受けているかを明らかにすることは基礎研究上の問題として興味深いだけでなく、応用においても重要であると考えられた。本講演では *C. maltosa* 及び *Y. lipolytica* ゲノム上に見出されたチトクロームP450Aik (P450Aik) をコードする遺伝子群についての解析をまとめる。

【結果】 *C. maltosa* ゲノム上には ALK1 から ALK8 まで命名された8種のP450Aikをコードすると考えられる配列が見出された。これらのうち、ALK4とALK7は2倍体とされる *C. maltosa* IAM12247株ゲノム中に対立遺伝子が見出されていない。従ってこの菌株では一部の相同染色体が失われており、これら遺伝子はたまたま残った染色体上に存在するものと考えられる。実際、パルスフィールド電気泳動によって分離された染色体には一部にDNA量が半分のものであり、ALK4はその上に検出された。また、ALK4には転写物が検出されず、5'隣接領域の構造からもこれが不活性な遺伝子であることが推定された。ALK2とALK3、およびALK7とALK8の一つの対立遺伝子は同方向に並んで隣接しており、これらは遺伝子重複によって生成したものと考えられる。実際ALK2とALK3間、およびALK7とALK8間では他のものと比較して相同性が高かった。興味深いのはALK6の対立遺伝子は大きさの異なる染色体上にあり、片方が他の染色体に移行した可能性がある。これらの遺伝子のうち、アルカンによって強く発現が誘導されるのはALK1、ALK2、ALK3、ALK5であり、この4種を全て破壊するとアルカンを資化して生育する能力が失われた。ALK遺伝子産物間では基質特異性に違いが見られた。

*Y. lipolytica* は半数体であるが、これからやはり8種のP450Aikが単離された。推定されたアミノ酸配列の比較から、これらのP450Aikは新たなCYP52サブファミリーを構成するものと考えられた。最も強くテトラデカンによって誘導される遺伝子はALK1であり、この破壊によって短鎖アルカンを資化して生育する能力のみが失われた。従って、これらP450Aik遺伝子は誘導性あるいは基質特異性を異にすることが明らかとなった。これらALK遺伝子群の染色体上における配置は今の所不明である。

以上の結果は、酵母が多様な炭化水素の存在に合わせてP450Aik遺伝子を進化させたことを示している。従ってそれらの中から最も望ましいP450Aik遺伝子を選び出して選択的に高生産することが、有効な利用につながると考えられる。

Analysis of the multigene system of cytochromes P450 in alkane-assimilating yeasts

○Akinori Ohta and Masamichi Takagi (Dept. Biotech., Univ. Tokyo)

【Key Words】 cytochrome P450, *Candida maltosa*, *Yarrowia lipolytica*, CYP52, alkane assimilation