

159

*Acinetobacter* sp. YAA のアニリン分解遺伝子群の制御機構  
(姫路工大・工・応化) ○糸井雅史、伊藤晃子、武尾正弘、根来誠司

【目的】 *Acinetobacter* sp. YAA株はアニリンをカテコールへ酸化し、その後、メタ開裂経路で分解することができる。我々はこの経路の全遺伝子を既にクローン化し、その塩基配列を明らかにした<sup>1,2)</sup>。この遺伝子群にはマルチコンポーネントのアニリン酸化酵素遺伝子(*atdA1-A5*)とその下流にLysRタイプの転写調節因子をコードすると推定される遺伝子(*atdR*)が存在する。ここでは、この分解系の制御機構を明らかにするために、*P. putida*を宿主として、遺伝子相補実験により*atdA1-A5*の発現における*atdR*の役割を明らかにすることにした。

【方法及び結果】 PCRにより増幅した*atdA1-A5*及び*atdR*の各遺伝子領域をそれぞれ広宿主域ベクターpBBR1MCS-2及びpKT230へ挿入し、組換えプラスミドpTB01、pKTR11を構築した。これらの組換えプラスミドを*P. putida* KT2440へ導入し、KT2440(pTB01)及びKT2440(pTB01,pKTR11)の2種類の組換え株を構築した。次に、これらの組換え株を栄養培地で培養、集菌し、10mMリン酸緩衝液(pH7.0)で洗浄した後、1mMアニリンを含む同緩衝液にO.D.<sub>600</sub>=1.0になるよう懸濁し、30°Cで振盪培養してアニリン分解試験を実施した。その結果、KT2440株で*atdA1-A5*が良好に発現し、両組換え株によりアニリンは完全に分解されたが、その分解はKT2440(pTB01)に比べて、KT2440(pTB01,pKTR11)はかなり速く、*atdR*の導入によってアニリンの分解が促進されることがわかった。このことより、*atdR*はこの分解系の正の制御遺伝子である可能性が示された。

1) Takeo, M., Fujii, T., and Maeda, J. *Ferment. Bioeng.*, **85**, 17-24 (1998)

2) Takeo, M., Fujii, T., Takenaka, K., and Maeda, Y., *J. Ferment. Bioeng.*, **85**, 514-517 (1998)

Regulation mechanism of the aniline degradation gene cluster from *Acinetobacter* sp. YAA.

○Masafumi Itoi, Akiko Ito, Masahiro Takeo, Seiji Negoro

(Dept. Appl. Chem., Himeji Institute of Technology)

【Key Words】 Aniline, *Acinetobacter*, LysR, regulation

160

*Rhodococcus* sp.T09 株の BT 分解における *dszD* 遺伝子発現の効果  
(国際石油交流セ(JCCP)、\*産総研 ○松井 徹、平澤和明、田中靖弘、丸橋健司、倉根隆一郎\*)

【目的】 これまで、ジベンゾチオフェン(DBT)類脱硫系については、酵素、遺伝子の両面から詳細な検討がなされているが、ベンゾチオフェン(BT)脱硫菌に関する報告はほとんどない。本報では、BT脱硫酵素系に関する基礎的知見を得るため、DBT脱硫菌より取得したフラビンレダクターゼ遺伝子 *dszD* を BT脱硫菌 *Rhodococcus* sp.T09 内で発現した場合の影響を検討した。

【方法及び結果】 当研究室で分離した DBT脱硫菌 *R.erythropolis*KA2-5-1 のゲノムより取得した、プロモータ部分を含むフラビンレダクターゼ遺伝子(*dszD*)を *E.coli* とのシャトルベクターに挿入した組み換えプラスミド pRKBE を用いて、電気パルス法により T09 株に形質転換した。得られた形質転換体 T09/pRKBE の BT 生育菌体を用いて BT 分解速度は約 3 倍に増加したことから、BT 分解にはフラビンレダクターゼが関与しており、T09 株のレダクターゼが *dszD* で代替できることが示唆された。Dsz D 抗体を用いたウエスタン解析では、T09 野生株には positive band は認められなかった。尚、本研究は資源エネルギー庁の補助研究事業として行われた。

Effect of *dszD* gene expression on Benzothiophene Degradation of *Rhodococcus* sp. Strain T09.

○Toru Matsui, Kazuaki Hirasawa, Yasuhiro Tanaka, Kenji Maruhashi and Ryuichiro Kurane \* (JCCP, \*AIST)

【key words】 desulfurization, *Rhodococcus* sp., recombinant, benzothiophene, flavinreductase