

Pseudomonas putida*における高発現宿主-ベクターシステムの開発*研究
概要**

有機溶媒耐性微生物による環境汚染物質の分解と物質変換



食環境科学部 食環境科学科

福森 文康 教授 Fumiyasu Fukumori

研究キーワード: 環境 化学 農薬

URL: <http://researchmap.jp/g0000198044>**研究シリーズの内容**

Pseudomonas putida(*P. putida*)やその近縁種は、自然環境における伝播、あるいは細胞内において新たに構築された遺伝子群により、通常の微生物では分解することの難しい化合物、特に多くの置換された芳香族有機化合物の分解能をもつ。また *P. putida*は、生物の中で際立って有機溶媒耐性が高く、その耐性は主に多剤薬剤排出ポンプ機能によっている。

本研究室では、馴化によって有機溶媒耐性度の上昇したトルエン耐性株(KT2442TOL 株)を取得するとともに、遺伝子発現調節タンパク質遺伝子 *oxyR* の変異株を取得して生理学的な解析を進めている。また、*oxyR*のある変異(*oxyR1*変異)は、*P. putida*において過酸化水素やアルキル過酸化物を還元するペルオキシレドキシシン(AhpC)の構成的高発現を引き起こす。これらを総合的に応用することにより、微生物による環境改善および有機溶媒存在下での物質生産を行うことを提案する。

*P. putida*において安定に保持されるプラスミドに *ahpC*プロモーターを導入し、発現ベクターを構築した。*oxyR1* 変異株において *ahpC*プロモーター活性が非常に高いことを利用し、その下流に発現させる遺伝子導入することで、同株において目的の遺伝子の大量発現が可能となった。また、宿主の *ahpC* 遺伝子のプロモーター上流に位置する *OxyR* 結合領域を欠失させた株では、導入した遺伝子のさらなる高発現が期待される。一方、高い有機溶媒耐性をもつトルエン耐性株に *oxyR1* 変異を導入した菌株において、適切な遺伝子群を発現させることにより、例えば原油などの炭化水素、ハロゲン化芳香族、ハロゲン化炭化水素などにより汚染された土壌の改善・修復の可能性が高まる。また、本菌株のもつ高い有機溶媒耐性を利用することで、より効果的に水-有機溶媒二相システムによる物質生産が可能となると考える。加えて、高い過酸化物質耐性をもつ *oxyR1* 変異株は、植物根圏での生育に優位であることが予想され、抗菌性ペプチドなどを大量発現させることにより、微生物農薬としての利用の可能性をもつと考えられる。

活用例・産業界へのアピールポイント

物質生産、環境修復、微生物農薬

特記事項(関連する発表論文・特許名称・出願番号等)

Hishinumaら、Environmental Microbiology, 2006, 2115-2124

Watanabeら、Journal of Biological Chemistry, 2012, 32674-32688