

氏名	本多 裕之、大河内 美奈
所属	名古屋大学 大学院工学研究科 化学・生物工学専攻
ウェブサイト	http://www.nubio.nagoya-u.ac.jp/proc/index.htm

化学プロセスの一部をバイオプロセスで代替することで、省エネルギーで低コストなトータルプロセスを開発するグリーンバイオテクノロジーという視点が注目されている。実際の化学プロセスを考えた場合には、様々な物質を溶解できるという利点から極性が高く疎水性が低い溶媒、すなわち微生物に対して毒性の高いトルエン、p-キシレン、シクロヘキサンといった有機溶媒が使用されることが多く、これらの溶媒存在下でも活性を示す酵素の探索、有機溶媒存在下で生育可能な菌株の育種が必要不可欠である（図1）。

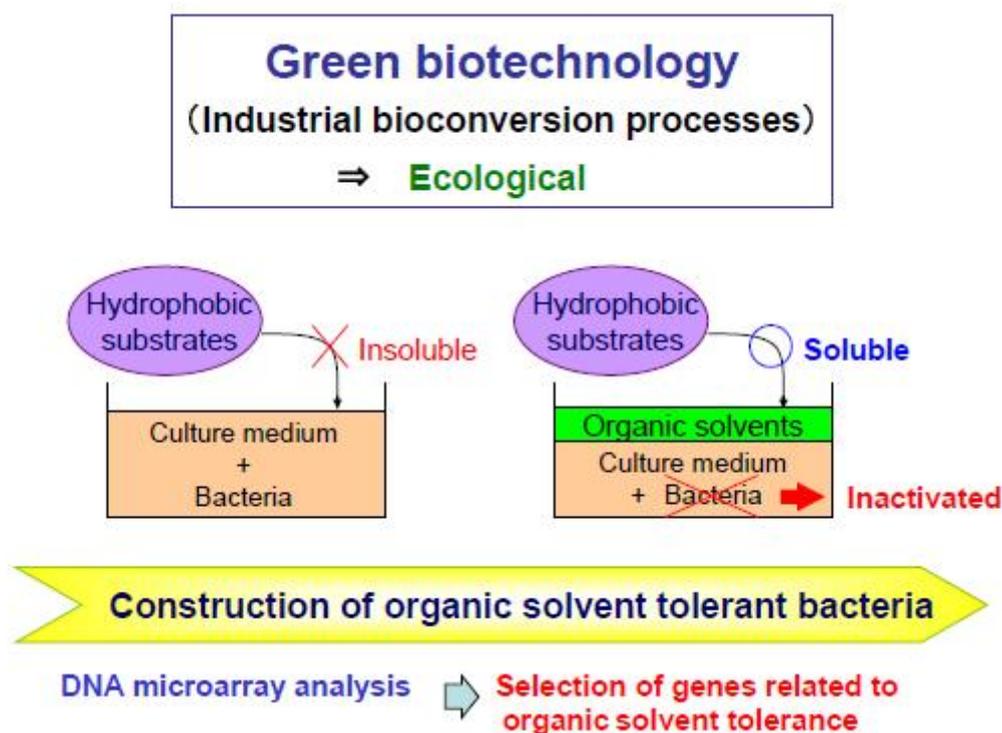


図1

高濃度のトルエン中で生育可能な微生物の存在が報告されて以来、微生物の有機溶媒耐性機構に関する研究が進められてきた。*Pseudomonas*属や大腸菌では有機溶媒耐性機構の一部概要が明らかとなっており、有機溶媒排出ポンプの存在、急速な細胞膜修復機構、細胞膜透過性の低下、細胞膜の硬化、細胞表面の疎水度の低下などの関与が明らかとなっている。さらに、DNAマイクロアレイ解析やプロテオーム解析による網羅解析が進められ、微生物の溶媒耐性機構を解明する研究が行われている。

我々は、微生物の有機溶媒に対する耐性機構を解析するため、DNAマイクロアレイにより大腸菌の有機溶媒添加後の時系列データの情報解析に基づいた溶媒耐性遺伝子の探索を行った。有機溶媒耐性を獲得した大腸菌の変異株によるDNAマイクロアレイデータは、有機溶媒耐性を誘発する細胞のプログラムの変化をとらえており、耐性を獲得する上で必要な遺伝子や代謝経路について知見が得られるものと考えられる。これまで、*marA*（既知）、*glpC*、*fruA*をはじめ、転写因子である*purR*、ホスホトランスフェラーゼシステムの*manXYZ*、糖代謝に関与するレギュレーターである*crp*が有機溶媒耐性に関連する遺伝子として探索した（図2,3）。

[DNA microarray analysis]

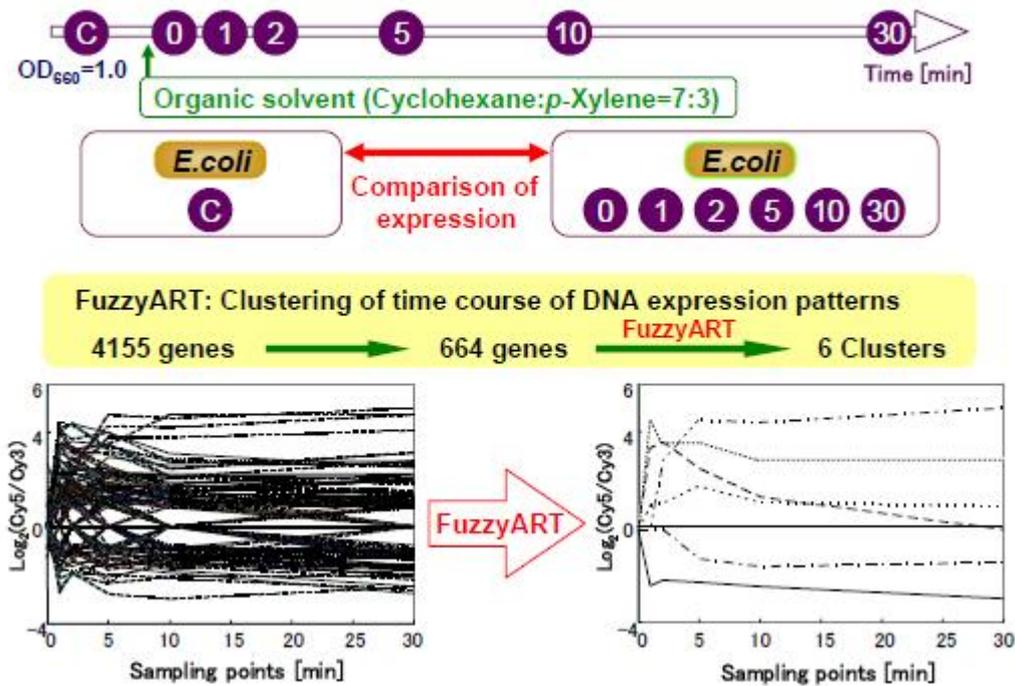


図2

[Selection of genes from DNA microarray data]

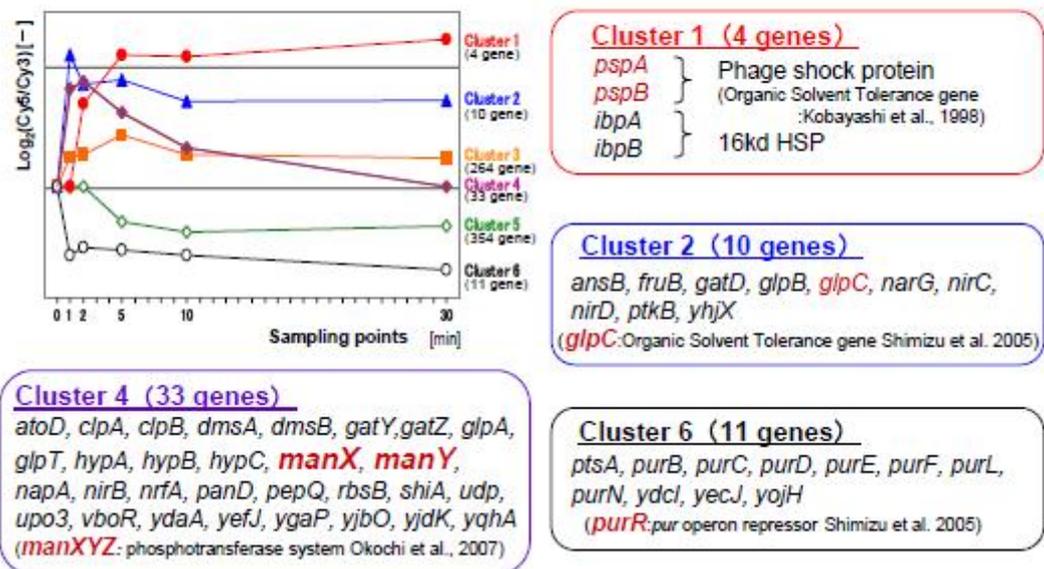


図3

また、高発現した遺伝子群にストレス応答たんぱく質がみられたことから、分子シャペロンを用いた耐性化を検討した。超好熱性古細菌由来の分子シャペロンであるプレフォルディンの導入により、耐性の向上を確認した（図4）。

Prefoldin: Cofactor of group II chaperonin

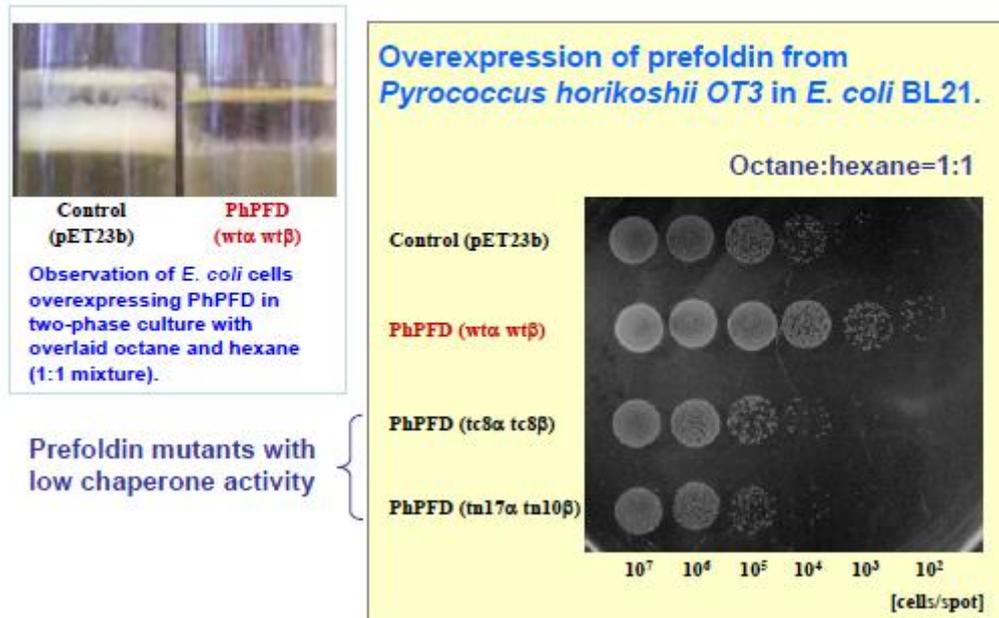


図4

細胞内のタンパク質の発現量は多くの転写因子によって制御されており、代謝調節機構などについては、未解明な点が多い。今後、細胞応答に関する機構を解析する新たなツールを開発していくことで、より戦略的に各バイオプロセスに適した宿主の創製が可能となるものと期待する。

公表論文・学会発表

- Okochi M, Kanie K, Kurimoto M, Yohda M, Honda H (2008) Overexpression of prefoldin from the hyperthermophilic archaeum *Pyrococcus horikoshii* OT3 endowed *Escherichia coli* with organic solvent tolerance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 79, 443-449.
- Okochi M, Kurimoto M, Shimizu K, Honda H (2008) Involvement of global transcriptional regulators related to carbohydrate metabolism on organic solvent tolerance in *Escherichia coli*. *J. Biosci. Bioeng.* 105(4), 389-394.
- Okochi M, Kurimoto M, Shimizu K, Honda H (2007) Increase of Organic Solvent Tolerance by Overexpression of *manXYZ* in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 3:1394-1399.
- Shimizu K, Hayashi S, Doukyu N, Kobayashi T, Honda H (2005) Time-course data analysis of gene expression profiles reveals purr regulon concerns in organic solvent tolerance in *Escherichia coli*. *J. Biosci. Bioeng.* 99:72-74.
- Shimizu K, Hayashi S, Kako T, Suzuki M, Tsukagoshi N, Doukyu N, Kobayashi T, Honda H (2005b) Discovery of *glpC*, an organic solvent tolerance-related gene in *Escherichia coli* using gene expression profiles from DNA microarrays. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:1093-1096.
- Hayashi S, Aono R, Hanai T, Mori H, Kobayashi T, Honda H (2003) Analysis of organic solvent tolerance in *Escherichia coli* using gene expression profiles from DNA microarrays. *J. Biosci. Bioeng.* 95:379-383.

[▶有機溶媒耐性微生物利用技術研究部会Top^](#)