

# 酢酸菌 *Acetobacter xylinum* におけるバクテリアセルロース 生合成遺伝子群の機能解析と応用

生命分子化学講座 生物化学分野  
小野 泰之

## 【背景および目的】

セルロースは、地球上で最も豊富な生体高分子のひとつである。しかし、セルロース生合成に関する多くの部分は未だわかっていない。酢酸菌 *Acetobacter* 属は、ゲル状のセルロース膜を生合成することが知られている。このバクテリアセルロース (BC) と植物セルロースの化学的高次構造は同様なため、BC 生合成機構の解明は、植物セルロース生合成機構の解明にも繋がるのが期待される。BC は植物セルロースに比べ繊維が細く、超微細な網目構造を形成し、その隙間に水分が保持されている。このため、高い保水性・弾力性・湿潤強度といった特徴を有し、様々な分野で広く利用されている。そこで新しい形態や物性の BC 創製により、その機能性が高まり、新たな用途が生まれると考えられる。本研究では、BC 生合成関連既知遺伝子群の解析や未知遺伝子の同定により、セルロース生合成機構の解明を目的とした。

## 【方法及び結果, 考察】

上記の目的を遂行するために、以下の2つの実験系を計画した。

### 実験Ⅰ BC 生合成遺伝子群を構成する各遺伝子の過剰発現株の作製

BC 生合成関連遺伝子群の各遺伝子をクローニングし、*A. xylinum* で過剰発現させ、その機能と生産される BC の解析を目指した。BC 生合成関連遺伝子群は、7つの遺伝子を有している。そのなかでも *orf2* は、BC 生合成に必須であることは確認されているものの、詳細な機能は未知である。そのため、*orf2* に特に注目し研究を進めた。 $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 (*bla*) プロモーターを用いた発現用ベクターを作製したところ、他の BC 生合成関連遺伝子の発現は確認されたが *orf2* の発現は確認できなかった。そのため、*A. xylinum* 内在 *orf2* プロモーター塩基配列を同定し、これを用いた発現用ベクターを作製し、*A. xylinum* に導入した。得られた変異株は、野生株とは外見上異なる BC を産生した。現在その物性の解析を行っているが、*orf2* 及びそのプロモーターの機能の一端の解明が期待される。

### 実験Ⅱ トランスポゾンを用いた変異株の作製

トランスポゾンを用いてカナマイシン耐性遺伝子 (KmR) を無作為に *A. xylinum* ゲノム DNA 内に挿入することにより、BC 生合成に関する未知遺伝子の同定を試みた。トランスポゾン用ベクターとして EZ-Tn5 pMOD-6<KAN-2/MCS>を用い、エレクトロポレーションにより *A. xylinum* ゲノム DNA を無作為に破壊した。得られた破壊株について、液体静置培養にて継代を行い、特徴的な BC を産生する破壊株を選抜した。