

白色腐朽菌における低分子芳香族化合物の資化性に関する研究

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 木質生命化学 永井 翔龍

1. 緒言

白色腐朽菌はリグニンを分解できる唯一の微生物であるが、時にリグニンを“食べる”とも形容される。しかしながら、リグニン、もしくは、リグニン分解により生じた低分子芳香族化合物を白色腐朽菌が“食べる”かについては、実態は明らかにされていない。本研究では、白色腐朽菌がリグニン分解によって生じる低分子芳香族化合物を資化するかについての検証を目的とし、低分子芳香族化合物を単一炭素源とした条件下での白色腐朽菌の生育評価を行った。更に、バクテリア型の芳香族化合物資化の鍵酵素 catechol dioxygenase 遺伝子の探索、ならびに当該遺伝子のリアルタイム PCR による発現解析を行った。

2. 実験方法

低分子芳香族化合物を単一炭素源とした条件における白色腐朽菌の生育評価 : *Trametes versicolor*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium* を前培養後、菌体を洗浄し炭素源(3.0 g/L)と minimum salt を含む培地にて 30 日間培養した。単一炭素源として芳香族化合物である veratryl alcohol (VA), benzoic acid, guaiacol, vanillic acid, ならびに芳香環開裂産物である *cis,cis*-muconic acid の 5 種を用いた。炭素源は、5 日ごと 6 回 (0,5,10,15,20,25 日目)に分けて間欠的に投与した。また control として minimum salt のみの培地での培養も行った。本培養後、凍結乾燥を行い、ergosterol を抽出した後、GC-MS 分析に供し、検出される ergosterol 量で評価した。Catechol 1,2-dioxygenase(C12O)遺伝子の発現比較 : *T. versicolor* を前培養後、PD 培地とトドマツ木片を添加した PD 培地にて 30 日間培養した。得られたサンプルに対して、RNA 抽出、DNase 処理、逆転写を行い、目的とする cDNA ライブラリーを調製した。遺伝子探索で得られた C12O 相同性領域を標的遺伝子として、得られた cDNA ライブラリーをリアルタイム PCR による発現量解析に供した。参照遺伝子に $\alpha 1$ tubulin と $\alpha 2$ tubulin を用いて、その発現量を比較した。

3. 結果および考察

低分子芳香族化合物を単一炭素源とした条件における白色腐朽菌の生育評価 : 被検菌の内、*P. eryngii* を除く 3 種において、*cis,cis*-muconic acid を単一炭素源とした培地での明確な生育が確認された。一方で、benzoic acid, guaiacol, vanillic acid を単一炭素源とした培地においては、すべての菌種が増殖を示さなかった。興味深いことに、白色腐朽菌の二次代謝産物である VA を単一炭素源とした培地においても、*P. eryngii* を除く 3 種において生育が確認された。この結果から、一部の白色腐朽菌が少なくとも *cis,cis*-muconic acid から下流の資化機構を有していること、フェノール性の化合物を資化できない一方、非フェノール性の VA を資化しうることが示された。Catechol 1,2-dioxygenase(C12O)遺伝子の発現比較 : リアルタイム PCR により、C12O 相同性遺伝子の発現量解析を行った結果、トドマツ木片の存在下で培養した *T. versicolor* の XP_008034211.1 遺伝子の高い発現が示された。この結果から、一部の白色腐朽菌においてバクテリア型資化の鍵酵素である C12O 遺伝子が存在し、当該遺伝子が木片の存在下で発現誘導されることが示唆された。