

「選択的白色腐朽菌ウスキイロカワタケ YK-624 菌株における遺伝子導入系構築」

農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター 山岸賢治

選択的白色腐朽菌ウスキイロカワタケ YK-624 菌株は、セルロースとリグニンの複合体であるイナワラに対し、リグニンを優先的に分解することによって糖化率を上げる特性を有する。YK-624 菌株の選択的リグニン分解機構を解明し、またリグニン分解力の増強を図ることを目的として遺伝子導入系を構築した。その結果、本来誘導型酵素であるリグニンペルオキシターゼを恒常的に発現する菌株を作出することが可能になった。

「研究の背景・ねらい」

稲わらなどの植物性バイオマスは、多量のセルロース、ヘミセルロースと、それを被覆する高分子リグニンから構成されている。これらの植物性バイオマスから、粗飼料としての消化性向上、及びエタノール発酵原料としてのセルラーゼ糖化性向上を図るには脱リグニン化が必要であり、微生物界で唯一高分子リグニンの分解力を持つ白色腐朽菌の利用が有効である。しかしながら、リグニン分解酵素は栄養飢餓条件などの特殊な環境下においてしか生産されないことが多い。また白色腐朽菌は、リグニンを分解すると同時にほぼ同量のセルロースを分解する性質があるため、バイオマス資源としての価値を目減りさせてしまうという欠点がある。

そこで本研究では、白色腐朽菌の中でも特にリグニン分解力に優れ、またセルロースに対し優先的にリグニンを分解する性質を持つ特殊な菌株(ウスキイロカワタケ YK-624 株) への遺伝子導入を行い、リグニン分解酵素を恒常的に生産させることを目標とした。

「研究の成果」

1) 遺伝子導入系を構築するにあたり、YK-624 菌株への紫外線照射により栄養要求性(ウラシル要求性)変異株 UV-64 を作製した。YK-624 菌株よりウラシル合成遺伝子を単離してマーカー遺伝子とし、同じく YK-624 菌株由来の GPD 遺伝子のプロモーター配列を単離して導入遺伝子を恒常的に発現させるためのプロモーターとした。本遺伝子導入系を利用して EGFP 遺伝子を導入したところ、菌体可溶性タンパク質の 1.2%まで EGFP を発現する菌株が得られたことから、作製した遺伝子導入系が機能していることが示された(図1)

2) 上記 GPD 遺伝子のプロモーター領域と YK-624 菌株由来リグニン分解酵素(YK-Lip1, YK-Lip2)を in-frame で結合し、UV-64 菌株への遺伝子導入を行った。遺伝子導入された菌株は親株 YK-624 がリグニン分解酵素を発現しない条件下においても両酵素を生産したことから、本遺伝子導入系の利用によって YK-624 菌株のリグニン分解能が強化されたことが示された(図2)。

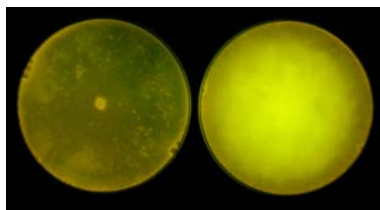


図1 EGFP 導入菌株の構築
(左:YK-624, 右:EGFP 導入菌株)

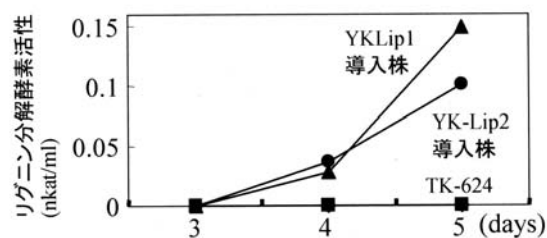


図2 リグニン分解酵素導入菌株の構築

「形態・生理」課題名：農産廃棄物高度利用を目的としたリグニン分解酵素を高生産する白色腐朽菌の作成

問い合わせ先：東北農業研究センター寒冷地バイオマス研究チーム (www-tohoku@naro.affrc.go.jp)

主な発表論文、特許等：Yamagishi K, Kimura T, Oita S, Sugiura T, Hirai H (2007) Transformation by complementation of a uracil auxotroph of the hyper lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete sordida* YK-624. *Appl Microbiol Biotechnol*.76, 1079-1091

特許出願：白色腐朽菌の形質転換体の作出方法及び該方法により得られた形質転換体。

出願日：平成19年4月20日、出願番号：特願 2007-111735