

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：11101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22560

研究課題名(和文) リグニン由来抗菌物質アセトバニロンの高い資化性を持つ新規微生物株の解析

研究課題名(英文) Characterization of novel microbial strains with high metabolic function of acetovanillone

研究代表者

樋口 雄大 (Higuchi, Yudai)

弘前大学・農学生命科学部・助教

研究者番号：70880045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：アセトバニロン(AV)はリグニンの酸化分解によって生成する主要な芳香族単量体であり、AVなどのアセトフェノン類は細菌に対して抗菌性を示すことが知られている。本研究は、AVの高い資化性をもつ新規微生物株であるMHK4株の解析を行った。MHK4株のAV代謝系を解析した結果、MHK4株が新規の酵素システムによってAVを分解することを明らかにした。またMHK4株をAV存在下で培養した際に転写誘導される遺伝子を網羅的に解析した結果、薬剤排出ポンプをコードする遺伝子群と相同性を示す遺伝子群が高く誘導されていたことから、これら遺伝子群がAVへの耐性を付与する因子として機能する可能性が推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、バクテリアによる新規のアセトバニロン(AV)変換酵素システムが明らかにされた。AVはリグニンの酸化分解により主に生成するため、本研究で得られた成果はリグニンからの有用物質生産系の構築に貢献することが期待される。また本研究で見出されたEfflux pump遺伝子はAVなどの芳香族化合物への耐性を高める因子として機能する可能性があるため、今後このEfflux pump遺伝子の機能を明らかにすることで、微生物に芳香族化合物の耐性を付与するためのツールとして利用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Acetovanillone (AV) is a major aromatic monomer produced in oxidative lignin depolymerization, and acetophenones such as AV are known to exhibit antibacterial properties. In this study, we investigated the MHK4, which is a novel microbial strain with high metabolic function of AV. It was identified that AV was degraded by a novel enzymatic system in MHK4. In addition, RNA-Seq analysis revealed that genes, encoding the efflux pump, were highly induced during MHK4 growth with AV. This fact suggested that these efflux pump genes may contribute to high metabolic function of AV for MHK4.

研究分野：応用微生物学

キーワード：lignin acetophenone acetovanillone RNA-Seq efflux pump

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

樹木の主要成分であるリグニン地球上で最も多く存在する芳香族化合物である。リグニンは複雑かつ不均一な構造であるため、リグニンを有効利用するためには化学的に分子間の結合を切断して低分子化した後、微生物の代謝能を利用して有用なポリマー原料等に変換することが必要である。細菌によるリグニン由来化合物の代謝系は、*Sphingobium* sp. SYK-6 株や *Pseudomonas putida* などで明らかにされ、それらの代謝系を利用することで様々なリグニン由来化合物からの有用物質生産が可能となってきた。

一方でリグニンの化学分解物の中には、微生物にとって毒性が高く、変換が容易ではない化合物も存在する。その一つとして、グラム陽性/陰性細菌を問わず細菌に抗菌作用を示すアセトフェノン類の一つ、アセトバニロン (AV) がある (Rajabi et al., *Lett. Appl. Microbiol.*, 2005)。AV はリグニンのアルカリ酸分解や塩基性触媒を用いた分解で生成し (Schutyser et al., *Chem. Soc. Rev.*, 2018), 化学パルプ製造工程で発生する黒液中にも含まれる。AV の微生物代謝系は SYK-6 株で明らかとされているが (Higuchi et al., *BioRxiv*, 2022), AV を唯一の炭素源・エネルギー源として SYK-6 株を生育させた場合、生育可能な AV 濃度の上限は最大 1 mM 程度であり、生育速度も極めて遅い (培養約 50 時間で定常期に到達)。リグニンからの有用物質生産において AV の微生物変換は律速段階であり、解決すべき課題である。そこで申請者は 5 mM AV で良好に生育する微生物株のスクリーニングを行った。その結果 4 つの AV 資化菌株を単離することに成功した。

## 2. 研究の目的

申請者はこれまでに、AV が高濃度で含まれる培地中で生育できる新規微生物株を単離することに成功した。そこで本研究では、これらの新規 AV 資化菌株がどのような代謝系により AV を代謝するのかを明らかにするために、AV 変換に関わる酵素遺伝子群を同定し機能解析を行うことを目的とした。またこれらの新規 AV 資化菌株の AV に対する耐性能を評価して、これらの株が高い AV 資化性を持つ理由についても併せて検討を行った。

## 3. 研究の方法

公表見合わせ中 (後日掲載予定)

## 4. 研究成果

公表見合わせ中 (後日掲載予定)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安田 智恵子, 竹内 綾, 樋口 雄大, 坂本 千穂, 石丸 裕也, 上村 直史, 吉川 琢也, 吉田 暁弘, 政井 英司, 増田 隆夫, 園木 和典
2. 発表標題 Pseudomonas sp. NGC7株を用いた針葉樹由来サルファイトリグニンのアルカリ水酸化銅酸化分解物からのバニリン酸生産
3. 学会等名 第66回リグニン討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 樋口 雄大, 石丸 裕也, 坂本 千穂, 吉川 琢也, 上村 直史, 政井 英司, 増田 隆夫, 園木 和典
2. 発表標題 針葉樹サルファイトリグニンのアルカリ水酸化銅酸化分解物からのバニリン酸生産
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------