

B208

二酸化チタン光触媒反応が誘引する微生物機能の発現と利用

(阪大院基工・化工) (正)尾島由紘, ○(正)田谷正仁*

【はじめに】

半導体である二酸化チタンは、410 nm 以下の光照射により励起されて伝導帯 (e^-) と価電子帯 (h^+) を生じ、 $\cdot O_2^-$ や $\cdot OH$ など反応性に富む酸化ラジカル種(ROS)を生成する。このことから、二酸化チタン光触媒反応を利用した有機物質の分解や有害微生物の殺菌が非常に活発に研究されている。当研究グループは、これまで二酸化チタン光触媒の酸化力を利用した殺菌プロセスの速度論的解釈と定量的評価、光殺菌リアクターの設計とシステム開発など、主として、生物化学工学的観点からの研究を進めてきた。しかしながら、細胞内外における ROS 発生は、DNA 損傷を含む細胞ダメージ、酵素不活性化、脂質膜の過酸化などの生物学機能上の劣化の原因である反面、特定のシグナル経路の活性化の引き金となることが報告されており、細胞における ROS 発生と消去の収支バランスは、細胞活性や増殖を保つのに大変重要であると考えられる。我々は、二酸化チタン光触媒を用いた ROS 発生による刺激を付与することで、細胞の新機能を引き出すことを目的として研究を進めている。

【光触媒反応による大腸菌の増殖と遺伝子発現の促進】

殺菌に関する一連の研究過程において、大腸菌の SOD 欠損株では、二酸化チタン存在下、適度な光強度では死滅することなく、かえって増殖速度が向上するとともに、細胞内の ROS 含量も減少することを見出した¹⁾。これは、殺菌という視点からは予想外の結果であると同時に、二酸化チタン光触媒反応ストレスのポジティブな効果を示す興味深い現象である。二酸化チタン光触媒による SOD 欠損株の増殖促進メカニズムとして、mRNA 発現量等を解析したところ、新規ストレス応答遺伝子(*yfiD*, *yggB*, *yggE*, *yggG*)の高発現が誘導され、さらに TCA 回路の低活性化により中枢代謝経路が好気的反応から嫌気的反応に移行し、細胞内 ROS の発生が抑制されるものと推察された^{2,3)}。

二酸化チタン光触媒に対し高発現が確認された新規ストレス応答遺伝子の 1 つである *yggE* の抗酸化機能を確認するため、パラコート存在下で *yggE* 発現量を増加させたところ、細胞内 ROS 含量が減少し、増殖阻害が緩和されることが判明した²⁾。さらに、反応の副産物として過酸化水素を発生することで細胞を損傷するモノアミンオキシダーゼと *yggE* を同時に大腸菌細胞内で発現する共発現系を構築したところ、*yggE* との共発現条件下でモノアミンオキシダーゼの発現量が飛躍的に向上する組換え体が出現し、またその細胞生存率も高い状態を維持できることが分かった⁴⁾。

SOD 欠損株で確認された中枢代謝経路の改変との関連

性を検討するために、4 つの新規ストレス応答遺伝子を野生株に導入し、中枢代謝活性に与える影響を試験した。このうち *yggB*, *yggE*, *yggG* 遺伝子導入株では、大腸菌の主要な副産物である酢酸の生成が抑制され、とくに *yggG* 遺伝子導入株においては、酢酸生成経路に対して分岐代謝となる TCA 回路の活性が低下しているのにもかかわらず酢酸生成が抑制され、中枢代謝経路においてボトルネックが形成されていることが推測された。

【アミノ酸生産への応用】

yggG の導入による中枢代謝のボトルネック形成の応用研究として、フェニルアラニン生産大腸菌に対する *yggG* の効果を調べた。*yggG* の導入により、副代謝生成物である酢酸の生産を抑制し、フェニルアラニンの生産濃度と収率をともに約 2 倍に向上させることに成功した。さらに遺伝子発現解析を行うことで、*yggG* 導入により中枢代謝にボトルネックが形成されることでフェニルアラニン合成の代謝経路が活性化され、目的通りアミノ酸生産効率の向上に成功したことを確認した。最後に *yggG* 欠損株の培養特性を検討したところ、酢酸を蓄積することが判明した。この原因として酢酸取込みの制御因子の発現バランスが崩れていることが明らかとなり、*yggG* 遺伝子は酢酸生成やその取込みに深く関与していることが示された。

【おわりに】

二酸化チタン光触媒からの酸化ストレスに対する大腸菌細胞の生理応答に伴って、機能未知遺伝子の発現が誘発されることが分かった。特に、*yggE* 遺伝子に関しては、酸化ストレス耐性に加えて、病原性細菌において感染性との関連が報告されているアクチンタンパク質と相同性が高く、その機能解明は新たなバイオコントロール手法の開発につながる可能性をもっている。

【参考文献】

- 1) S. Y. Kim *et al.*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **236**, 109-114 (2004)
- 2) S. Y. Kim *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 2762-2765 (2005)
- 3) Y. Ojima *et al.*, *Biotechnol. Lett.*, **30**, 1107-1113 (2008)
- 4) Y. Ojima *et al.*, *Biotechnol. Lett.*, **31**, 1139-1145 (2009)
- 5) Y. Ojima *et al.*, *Biotechnol. Lett.*, **31**, 525-530 (2009)

*TEL : 06-6850-6251, FAX : 06-6850-6254

e-mail : taya@cheng.es.osaka-u.ac.jp