

スフィンゴモナスは優等生

落合 秋人

Sphingomonas 属細菌は、20年ほど前に *Pseudomonas* 属から分枝された細菌群で、グラム陰性細菌でありながらグラム陰性細菌に特有のリポ多糖を含まず、代わりに真核細胞にみられるスフィンゴ糖脂質をもつ。その後、本細菌群は、さらに *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Novosphingobium*, *Sphingopyxis* や *Sphingosinicella* に再分類することが提唱されているが、本稿では *Sphingomonas* 属細菌として扱う。また、淡水と海水を含む水環境、土壌、植物根系などさまざまな環境に生育しているごく身近な微生物でもある。その広範囲にわたる生育分布は、多種多様な有機化合物を利用することができ、さらには貧栄養の環境でも生存できる強靱な生命力によるものである。*Sphingomonas* 属細菌の多くは、比較的きれいな環境から単離されたが、一部の菌種は、PCB、クレオソート、ペンタクロロフェノール、除草剤のような有毒な有機化合物を含んだ汚染された環境で単離された。その後の研究において、これらの細菌は、ある種の有機汚染物質を細胞内に取り込み、エネルギー源として利用することが明らかにされた。細胞内への取り込みは、*Sphingomonas* 属細菌の細胞表層が他の細菌に比べて強い疎水的雰囲気をもつことに起因する。これらの背景により、*Sphingomonas* 属細菌における有機汚染物質の代謝メカニズムの解明が進み、環境浄化（バイオレメディエーション）に向けた多くのアプリケーションが世界中で試みられることになる。

1990年以降、さまざまな芳香族化合物を分解する *Sphingomonas* 属細菌が単離されたり、キシレン、ナフタレン、トリクロロフェノールなどの分解に関わる、*S. yanoikuyae* B1, *S. aromaticivorans* E199, *S. subarctica* KFI をはじめとして、その数は数十種にもおよぶ。1992年には、ダイオキシンの一種であるジベンゾ-*p*-ダイオキシンやジベンゾフランを分解する *S. wittichii* RW1 (RW1株) が単離された²⁾。ダイオキシンとは、ポリ塩化ジベンゾ-*p*-ダイオキシン、ポリ塩化ジベンゾフラン、ダイオキシン様ポリ塩化ビフェニルの総称である。2,3,7,8-テトラクロロジベンゾフランをはじめとして、これらの物質は人体に強力な毒性と変異原性を示す。RW1株は、ジベンゾ-*p*-ダイオキシンを単一エネルギー源として利用することができる。ジベンゾ-*p*-ダイオキシンは、RW1細胞内で、核間ジオキシゲナーゼ、エクストラジオールジオキシゲナーゼ、加水分解酵素などの働きにより、カテコールを経由して分解される。のちには、当該細菌が水酸化もしくは塩素化された多種類のダイオキシンを分解することも示された。

もちろん、これらの *Sphingomonas* 属細菌がそのままバイオレメディエーションに利用できるとは限らない。実際には、汚染土壌の温度、通気条件、栄養状態、あるいは有機汚染物質の溶解度などの影響を強く受ける。環境中で高い浄化活性を発揮させるために、遺伝子工学的

手法も試みられている。近年、麻生らが“超チャネル”を用いたRW1株のダイオキシン分解能力の増強を報告した³⁾。*Sphingomonas* sp. A1は、細胞表層の襞状分子を再構成させ、巨大な孔である「体腔」を形成する。本来はアルギン酸のような高分子多糖を取り込む分子装置（超チャネル）であるが、この体腔形成に関わる一連の遺伝子をプラスミドベクターに挿入し、RW1株に導入した。体腔形成遺伝子を保持したRW1株は、細胞表層に体腔を形成し、RW1野生株より高効率でジベンゾ-*p*-ダイオキシンを分解することが確認された。この手法の応用により、RW1野生株よりはるかに効率的にダイオキシン類を分解することが可能となる。

多くの *Sphingomonas* 属細菌では、有機汚染物質の分解に関わる一連の遺伝子群は、巨大なプラスミドにコードされている。DNAハイブリダイゼーションを用いた研究により、RW1株においてもジベンゾ-*p*-ダイオキシンやジベンゾフランの分解遺伝子をコードするプラスミド pSWIT02 が確認されていた。近年、このプラスミドを含むRW1株の全ゲノム配列が決定された⁴⁾。これにより、汚染土壌に順応し、かつダイオキシンの分解性を有する細菌を遺伝子的に設計するための技術開発が、今後盛んになるであろう。

このように、*Sphingomonas* 属細菌を利用した有機汚染物質のバイオレメディエーションに関する研究は、精力的に進められている。一方で、本属細菌を利用した技術として、褐藻類の主成分であるアルギン酸（乾燥藻体の20～40%を占める。構成単糖：ウロン酸）からのバイオエタノール生産技術が報告された^{5, 6)}。具体的には、体腔形成能と強力なアルギン酸代謝能をもつ *Sphingomonas* sp. A1 に *Zymomonas mobilis* 由来のエタノール合成系遺伝子群を導入し、アルギン酸からのエタノール生産を可能にした。また、高発現プロモーターの利用、多コピー化によるエタノール合成系遺伝子発現の増強、ゲノム遺伝子破壊による副産物合成系の遮断などにより、エタノール生産能を高めている（1.3% w/v, 72時間）。本研究は、*Sphingomonas* 属細菌の高い汎用性を示している。今後、バイオレメディエーション分野だけでなく、エネルギー分野に至るまでの包括的な環境問題に対する解決策を与える手段として、*Sphingomonas* 属細菌が広く応用されることが期待される。

- 1) Stolz, A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **81**, 793 (2009).
- 2) Wittich, R. M. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 1005 (1992).
- 3) Aso, Y. et al.: *Nature Biotechnol.*, **24**, 188 (2006).
- 4) Miller, T. R. et al.: *J. Bacteriol.*, **192**, 6101 (2010).
- 5) Takeda, H. et al.: *Energy Environ. Sci.*, **4**, 2575 (2011).
- 6) 竹田ら：日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 169 (2011). トビックス賞受賞