

遺伝子組換え微生物によるポリ塩化ビフェニル無害化に向けて

櫻間 晴子

ポリ塩化ビフェニル類 (PCBs) (図1) は、著名な有機塩素系の環境汚染物質の一つである。母核となるビフェニル環上の10か所の水素が多様な位置と数の組合せで塩素に置換された物質で、理論上209種類もの異性体が存在する¹⁾。PCBsは化学的に安定で絶縁性に優れているため、かつてはコンデンサの絶縁油などに使用されていたが、生体への低濃度蓄積性による次世代への生殖発生毒性や免疫毒性について危惧されるようになり²⁾、現在では製造が中止されている。今も環境中に残存しているPCBsの廃絶は、近未来の地球規模での持続可能な社会形成において「きわめて重要な課題」として国際的に確認されている。

PCBs汚染の浄化には、地球創成期から過酷な環境に生存適応してきた微生物の代謝機能を利用したバイオレメディエーションが期待される³⁾。バイオレメディエーションは、汚染原位置に棲息する微生物に酸素や栄養を与えて、汚染物質代謝を活性化するバイオスティムレーションと、対象汚染物質の浄化にあらかじめ有効性が確認されている微生物を原位置へ投入するバイオオーグメンテーションに分かれる。有効なバイオオーグメンテーションには、対象物質の毒性に耐性を有するとともに、土着の微生物に駆逐される前に対象物質を速やかに代謝変換できる微生物の使用が重要だと考える。

これまでPCBsを分解する多くの好気性ならびに嫌気性の微生物が単離されてきたが、その分解機序は酸化(代謝)であったり脱塩素化(呼吸)であったりと、微生物種により異なる。とりわけ好気性細菌ではビフェニル資化に働く一連の代謝酵素群が共代謝により分解する。この酵素群の中には芳香環水酸化酵素の一種であるビフェニルジオキシゲナーゼ (BDO) が含まれ、分子状酸素の二つの酸素原子を水酸基の形で *cis* 型に導入する反応を触媒する。このプロセスはPCBs分解の初発反応であり、以後の代謝を左右する重要な役割を担うことから、BDOの基質特異性が菌株のPCBs分解特性を決定すると考えて良い⁴⁾。自然界由来のBDOsは多様で、その多くが5塩素化PCBsの一部までを分解できる。しかしながら、環境浄化では6および7塩素化PCBsも対象に含まれており、現状では単一種の微生物でPCBsを浄化するのは難しいと考えられている。本稿では、遺伝子工学的アプローチによりPCBs分解に有用なBDOsの触媒機能を拡張した例を紹介する。

BDOは多成分酵素であり、大サブユニット (BphA1) と小サブユニット (BphA2) の2種類で構成される末端ジオキシゲナーゼに加えて、フェレドキシン (BphA3) とフェレドキシン還元酵素 (BphA4) を含む電子伝達系から成る。BphA1は酸素添加反応に必要な非ヘム鉄 (Fe^{2+}) を含む基質結合ポケットならびに電子伝達系から電子を

受け取るためのRieske型[2Fe-2S]クラスターを有し、BDOの基質特異性を主に決定していることが明らかとなっている⁴⁾。これまで、*Bulkholderia xenovorans* LB400株ならびに*Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707株由来の酵素を中心にBphA1の変異体解析が行われ、基質特異性を制御するアミノ酸残基が明らかとなってきた。そのうち、LB400株BphA1のアミノ酸領域III (Thr335-Phe336-Asn337-Asn338-Ile339-Arg340-Ile341) の変異型酵素では、野生型酵素よりも基質特異性が広がり、6塩素化した2,2',3,4,5,5'-PCB (図1) を分解できるようになった⁵⁾。この領域のうち、特に重要なアミノ酸残基はThr335とPhe336であった⁶⁾。高高い芳香族アミノ酸であるPhe336は基質結合ポケットの壁を構成しており、Met残基などに置換することで基質結合ポケットの空間が広がり、基質の配向性が変化することがわかった。一方で、Thr335は基質から離れた位置に存在し、側鎖の水酸基が基質結合ポケットを構成するループ (Val320-Gly321-Gln322) の主鎖と水素結合していたため、Ala残基などへ置換することでループの可動性が高まった。さらに、アミノ酸領域III以外にも、基質結合ポケットの壁を構成する高高いアミノ酸残基や、基質結合ポケットの柔軟性を高めるようなアミノ酸残基の存在が報告されており、これらを組み合わせることで、塩素置換数が多いPCBsでも基質結合ポケットへの挿入が可能となる空間が形成され、水酸化反応へと進ませることができるようではないだろうか。

多重変異の導入で基質特異性をさらに拡張した有用なBDOsを創出できれば、今後こうした変異型酵素を利用した遺伝子組換え微生物が次々に創生され、生物多様性を破壊しない無害化システムでもって、PCBsで汚染された土壌や河川、湖沼を浄化できるようになることが期待される。

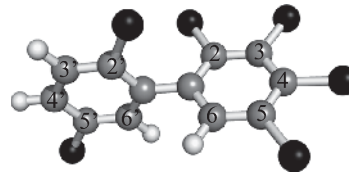


図1. PCBの構造例 (2,2',3,4,5,5'-PCB)

- 1) 環境省: 絶縁油中の微量PCBに関する簡易測定法マニュアル (第3版)。
- 2) 中西準子ら: コプラナー PCB, 丸善。
- 3) 原富次郎ら: 産業と環境, **41**, 65 (2012)。
- 4) 末永 光ら: 環境バイオテクノロジー学会誌, **2**, 1 (2002)。
- 5) Barriault, D. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **279**, 47480 (2004)。
- 6) Kumar, P. *et al.*: *J. Mol. Biol.*, **405**, 531 (2011)。