

発現している¹⁵⁾。CXCL14/BRAKの分子機能を明らかにすることにより、これまでの単に白血球の走化性を制御するというケモカインの機能の概念を変える展開が期待される。

謝辞

本研究の遂行に際して協力していただいた小澤重幸博士(現神奈川歯科大学顎顔面外科学講座助教)、加藤靖正博士(現奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座教授)をはじめ共同研究者の方々に感謝する。また、本ミニレビューで引用した研究は文部科学省ハイテクリサーチセンタープロジェクトおよび科学研究費補助金によって行われた。

- 1) Ozawa, S., Kato, Y., Komori, R., Maehata, Y., Kubota, E., & Hata, R. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 348, 406–412.
- 2) Hromas, R., Broxmeyer, H.E., Kim, C., Nakshatri, H., Christopherson II, K., Azam, M., & Hou, Y.-H. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 255, 703–706.
- 3) Zlotnik, A., Yoshie, O., & Nomiya, H. (2006) *Genome Biol.*, 7, 243.
- 4) Ozawa, S., Kato, Y., Kubota, E., & Hata, R. (2009) *Biomed. Res.*, 30, 315–318.
- 5) Ozawa, S., Kato, Y., Ito, S., Komori, R., Shiiki, N., Tsukinoki, K., Ozono, S., Maehata, Y., Taguchi, T., Imagawa-Ishiguro, Y., Tsukuda, M., Kubota, E., & Hata, R. (2009) *Cancer Sci.*, 100, 2202–2209.
- 6) Komori, R., Ozawa, S., Kato, Y., Shinji, H., Kimoto, S., & Hata, R. (2010) *Biomed. Res.*, 31, 123–131.
- 7) Ozawa, S., Ito, S., Kato, Y., Kubota, E., & Hata, R. (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 396, 1060–1064.
- 8) Maehata, Y., Ozawa, S., Kobayashi, K., Kato, Y., Yoshino, F., Miyamoto, C., Izukuri, K., Kubota, E., Hata, R., & Lee, M.C. (2010) *Free Radic. Res.*, 44, 913–924.
- 9) Schwarze, S.R., Luo, J., Isaacs, W.B., & Jarrard, D.F. (2005) *Prostate*, 64, 67–74.
- 10) Allinen, M., Beroukhi, R., Cai, L., Brennan, C., Lahti-Domenici, J., Huang, H., Porter, D., Hu, M., Chin, L., Richardson, A., Schnitt, S., Sellers, W.R., & Polyak, K. (2004) *Cancer Cell*, 6, 17–32.
- 11) Izukuri, K., Suzuki, K., Yajima, N., Ozawa, S., Ito, S., Kubota, E., & Hata, R. (2010) *Transgenic Res.*, 19, 1109–1117.
- 12) Izukuri, K., Ito, S., Nozaki, N., Yajima, N., Iwamiya, M., Kawahara, S., Suzuki, K., Kubota, E., & Hata, R. (2010) *Lab. Med.*, 41, 478–482.
- 13) Shellenberger, T.D., Wang, M., Gujrati, M., Jayakumar, A., Strieter, R.M., Burdick, M.D., Ioannides, C.G., Efferson, C.L., El-Naggar, A.K., Roberts, D., Clayman, G.L., & Frederick, M. J. (2004) *Cancer Res.*, 64, 8262–8270.
- 14) 原 孝彦 (2008) 生化学, 80, 1133–1136.
- 15) Yamamoto, T., Yamashita, A., Yamada, K., & Hata, R. (2011) *Neurosci. Lett.*, 487, 335–340.

畑 隆一郎

(神奈川歯科大学口腔難治疾患研究センター)

Regulation of CXCL14/BRAK, a tumor-suppressing chemokine, by MAP kinase subtype-specific crosstalk
Ryu-Ichiro Hata (Oral Health Science Research Center, Kanagawa Dental College, 82 Inaoka-cho, Yokosuka 238–8580, Japan)

投稿受付：平成 23 年 1 月 11 日

出芽酵母におけるリボソームタンパク質遺伝子の新規転写開始制御機構

1. 始めに—真核生物のリボソーム合成

リボソームは生物のタンパク質合成を担う巨大複合体であり、その構造と機能に関する研究に対し 2009 年のノーベル化学賞が与えられたことは記憶に新しい。真核生物のリボソームは 4 種類のリボソーム RNA (rRNA) と 79 種類(出芽酵母の場合)のリボソームタンパク質 (RP; ribosomal protein) から構成され、その合成は核内に存在する 3 種類全ての RNA ポリメラーゼ (Pol I, Pol II, Pol III) が関わる唯一の細胞内イベントである (Pol I が 35S rRNA, Pol II が RP の mRNA, Pol III が 5S rRNA をそれぞれ転写する)。活発に増殖する酵母細胞においては、全転写反応の約 60% が rRNA の転写に、全 mRNA 転写の約 50% が RP の mRNA の転写に費やされるなど、リボソームの合成には膨大な細胞資源を必要とする¹⁾。そのため生物は、細胞内外の環境に応じて三つの転写系を速やか、かつ協調的に on/off することで、無駄のないリボソーム合成を行っている。近年、リボソームの合成が、細胞のサイズや分裂のタイミングの決定、転写や複製、mRNA の局在など、様々な細胞機能と密接に関与することが明らかになりつつある。そのため、リボソーム合成制御の正しい理解は、転写や翻訳のみならず幅広い研究領域に重要な知見をもたらすと考えられる。各転写系の制御機構については、それぞれが独立に大きなテーマであるため、本稿では Pol II による RP 遺伝子の転写制御に絞り、主に著者らが独自に見いだした Hmo1 (High mobility group protein 1) タンパク質による RP 遺伝子の新規な転写開始点決定機構について述べる。

2. 出芽酵母における RP 遺伝子の転写制御機構

出芽酵母の RP 遺伝子群の転写調節については、現在主に三つの系とそれに関わる因子が明らかにされている (図 1)。第一は、大部分の RP 遺伝子の 5' 上流に結合配列を持つ転写因子 Rap1 (Repressor activator protein 1) がプロモーター近傍のヌクレオソームの除去²⁾、ヒストンアセチル化酵素複合体 NuA4 (Nucleosome acetyltransferase of histone H4) や基本転写因子 TFIID 等の因子のリクルートを介して転写を促進する系である (図 1A)³⁾。Rap1 結合配列のない RP 遺伝子では Abf1 (ARS-binding factor 1) が一部 Rap1 の働きを代替すると考えられている。第二は、大部分の RP 遺伝子プロモーターに結合する転写因子 Fhl1 (Fork head-like 1) が⁵⁾、細胞内外の環境に応じて、転写のコアクチベーター Ifh1 (Interacts with fork head 1)、あるいはコリプレッサー Crf1 (Co-repressor with Fhl1) をリクルートすることにより転写の on/off の切り替えを行う系である (図 1B)⁴⁾。Crf1 は好栄養条件下では核外に局在するが、糖源

の変化 (グルコースの除去や他の糖源へのシフト)、TORC1 (Target of rapamycin complex 1) プロテインキナーゼの阻害剤ラパマイシンの添加などに応じてリン酸化を受け、核内へと移行する。また、後述するように Fhl1 の結合は多くの RP 遺伝子プロモーターにおいて Hmo1 依存的に起こることが明らかにされている^{5,6)}。第三の系は、栄養条件やストレスに応答して、核と細胞質を行き来する転写因子 Sfp1 (Split finger protein 1) の関与する系である (図 1C)。Sfp1 の核局在には TORC1、あるいはプロテインキナーゼ A (PKA) によるリン酸化や細胞内小胞輸送の関与が示唆されている⁷⁾。また Sfp1 は RP 遺伝子に加え、リボソーム生合成に関わる遺伝子群 (Ribi; ribosome biogenesis) の転写、及び細胞のサイズ調節への関与が示されているが⁸⁾、その具体的な機能については、その標的配列も含めほとんど解っていない。なお、実際には細胞内においてこれらの機構が独立にはなく協調的に働くことで、環境に応じたリボソームタンパク質の生合成を行っていると考えられる。

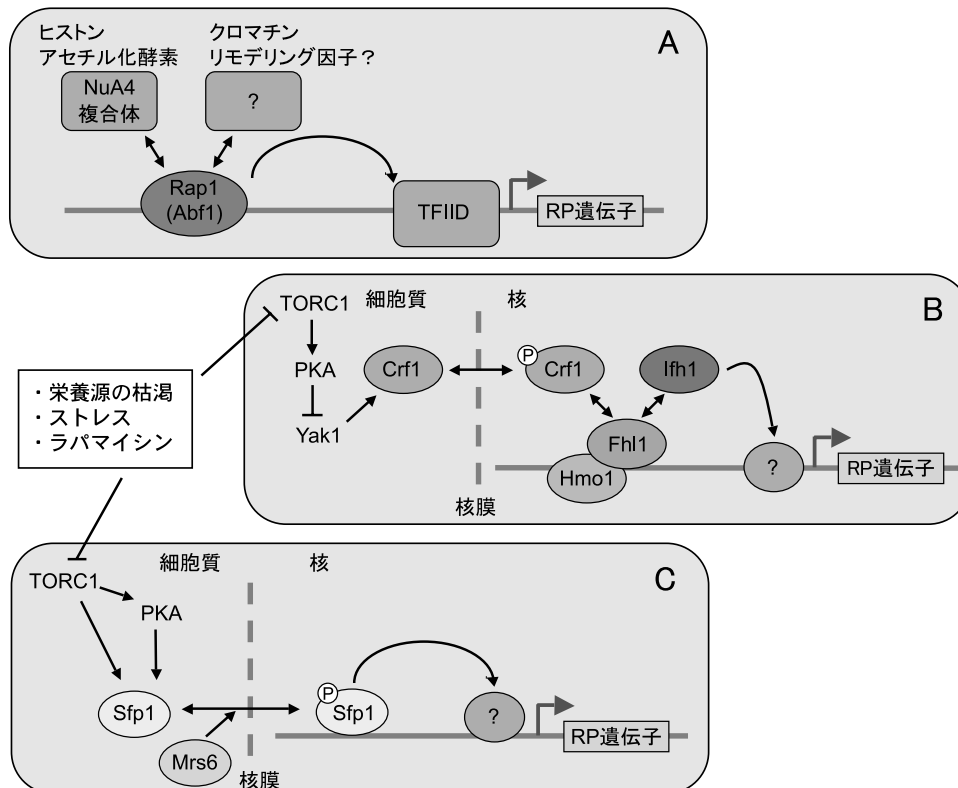


図 1 出芽酵母におけるリボソームタンパク質遺伝子の転写制御に関わる因子の働き
A, B, C はそれぞれ Rap1, Fhl1/Ifh1/Crf1, 及び Sfp1 による転写制御の系を示す。各々の系の詳細は本文参照。

3. 出芽酵母 Hmo1 の標的遺伝子の同定

Hmo1 は出芽酵母に 10 個ある HMGB (High mobility group B) ファミリータンパク質の一つであり、2002 年に Pol I による rRNA の転写因子として同定されたのが転写因子としての最初の報告である⁹⁾。Hmo1 は DNA 結合モチーフとして二つの HMG ボックスを持ち、当初は高等真核生物の Pol I 系に特異的な転写因子 UBF (Upstream binding factor 1) のオルソログと考えられた。しかし、著者らは Hmo1 を Pol II 系の基本転写因子 TFIID の結合因子として同定したことから、Hmo1 が Pol II 系の転写因子としても働くのではないかと考えた¹⁰⁾。著者、及び Struhl らのグループによる全ゲノム、及び個別の遺伝子に対する ChIP 解析の結果、Hmo1 が Pol I によって転写される 35S rRNA 遺伝子に加え、タンパク質をコードする遺伝子、中でも RP 遺伝子のプロモーターに強く結合していることが明らかになった^{5,6)}。Rap1 や Fhl1 が大部分の RP 遺伝子に結合しているのに対し、Hmo1 は約 7 割の RP 遺伝子にのみ強く結合しており、これらのプロモーターでは *HMO1* 遺伝子破壊 (以下 $\Delta hmo1$) によって、Fhl1 の結合が失われることから、Hmo1 が Fhl1 結合を促進することが明らかになった。一方、Hmo1 結合の無い (あるいは少ない) 残りの RP 遺伝子では、 $\Delta hmo1$ によっても Fhl1 の結合は失われず、Fhl1 はこれらのプロモーターには Hmo1 非依存的に結合することが明らかになった。これらの結果は、その遺伝子産物がリボソームをストイキオメトリックに構成するという特性と、その発現の高い協調性から、従来画一的な転写制御を受けると考えられてきた RP 遺伝子群が、Hmo1 の結合量、及び Fhl1 結合の Hmo1 依存性に関して異なる (複数の) 制御を受けることを示唆するものである。

4. $\Delta hmo1$ 株における RP 遺伝子の転写開始点異常

著者は Hmo1 の転写における具体的な機能を明らかにする目的で、 $\Delta hmo1$ 株についての多角的な解析を行った。その中で $\Delta hmo1$ が基本転写因子 TFIIB (Sua7), 及び Pol II の最大サブユニット Rpb1 (RNA polymerase B 1) の一部の温度感受性変異株 (それぞれ *sua7-R78C*, *rpb1-N445S*, *rpb1-R344A*) の高温 (37℃) での生育を回復させることを見いだした。これらの変異は多くのプロモーターの転写開始点を下流側にシフトさせるという極めて特徴的な形質を共通に持ち、またこれらの株が示す温度感受性を抑圧する変異として逆に転写開始点を上流側にシフトさせる変異も単離されている。そこで著者らは、 $\Delta hmo1$

による上記温度感受性の抑圧も転写開始点の上流へのシフトに起因するのではないかと考え、プライマー伸長法により Hmo1 の主要な標的遺伝子である *RPS5* の転写開始点を野生株と $\Delta hmo1$ で比較した。その結果 $\Delta hmo1$ により *RPS5* の転写開始点が上流側にシフトすることが明らかとなった¹⁰⁾。

コアプロモーター上に Pol II、及び基本転写因子群 (TFIIA, B, D, E, F, H) が重合し、転写開始前複合体 (PIC; pre-initiation complex) を形成するステップは、転写開始点決定の初発段階として真核生物に共通である。しかし後生動物ではその後、コアプロモーターエレメントからほぼ決まった位置 (例えば TATA 配列から 25~30 bp 下流) から転写が開始するのに対し、出芽酵母では二本鎖 DNA が解離した後に、Pol II が下流に向かって配列のスクランピングを行い、転写開始点として適当な配列に出合ったところで転写を開始すると考えられており (スクランピングモデル)、転写開始点の PIC からの距離は 40~120 bp と、遺伝子ごとに異なっている¹¹⁾。Pol II による mRNA の転写系は後生動物と出芽酵母で高度に保存されているにも関わらず、なぜ転写開始点決定の仕組みだけが根本的に異なっているのかは転写分野における大きな謎である。ただ、このモデルに従えば転写開始点が上流側にシフトする原因としては、PIC 形成前の異常と PIC 形成後の異常の二つが想定される。後者は、PIC 形成後の Pol II 活性の変化、例えば転写開始点の認識特異性や、本来途中で中断されてしまうような転写 (abortive transcription) を継続して伸長する、などの変化により本来よりも上流からの転写産物が増加すると考えられる^{12,13)}。転写開始点を上流にシフトさせる既知の変異は全て Pol II 自身 (*Δrpb9*, *rpb2*)、あるいは Pol II を制御する基本転写因子 TFIIF (*tfg1*, *tfg2*) の変異であり、その転写開始点異常の原因は後者の異常にあると考えられている。これに対し、前者は PIC の重合が本来よりも上流で起こることにより上流からの転写産物が増加するというものである。実際には、前者が原因と思われる転写開始点のシフトはまだ報告されていないが、現在までに Hmo1 と Pol II との直接の相互作用は検出されていないことから、著者は $\Delta hmo1$ 株における転写開始点の異常は PIC 形成前の異常に起因するのではないかと考えた。

5. $\Delta hmo1$ 株における転写開始点シフトの機構

$\Delta hmo1$ 株における転写開始点異常の原因解明のため、まず Hmo1 結合が多く、 $\Delta hmo1$ による転写開始点のシフトが顕著な *RPS5* と、Hmo1 結合が少なく、 $\Delta hmo1$ によ

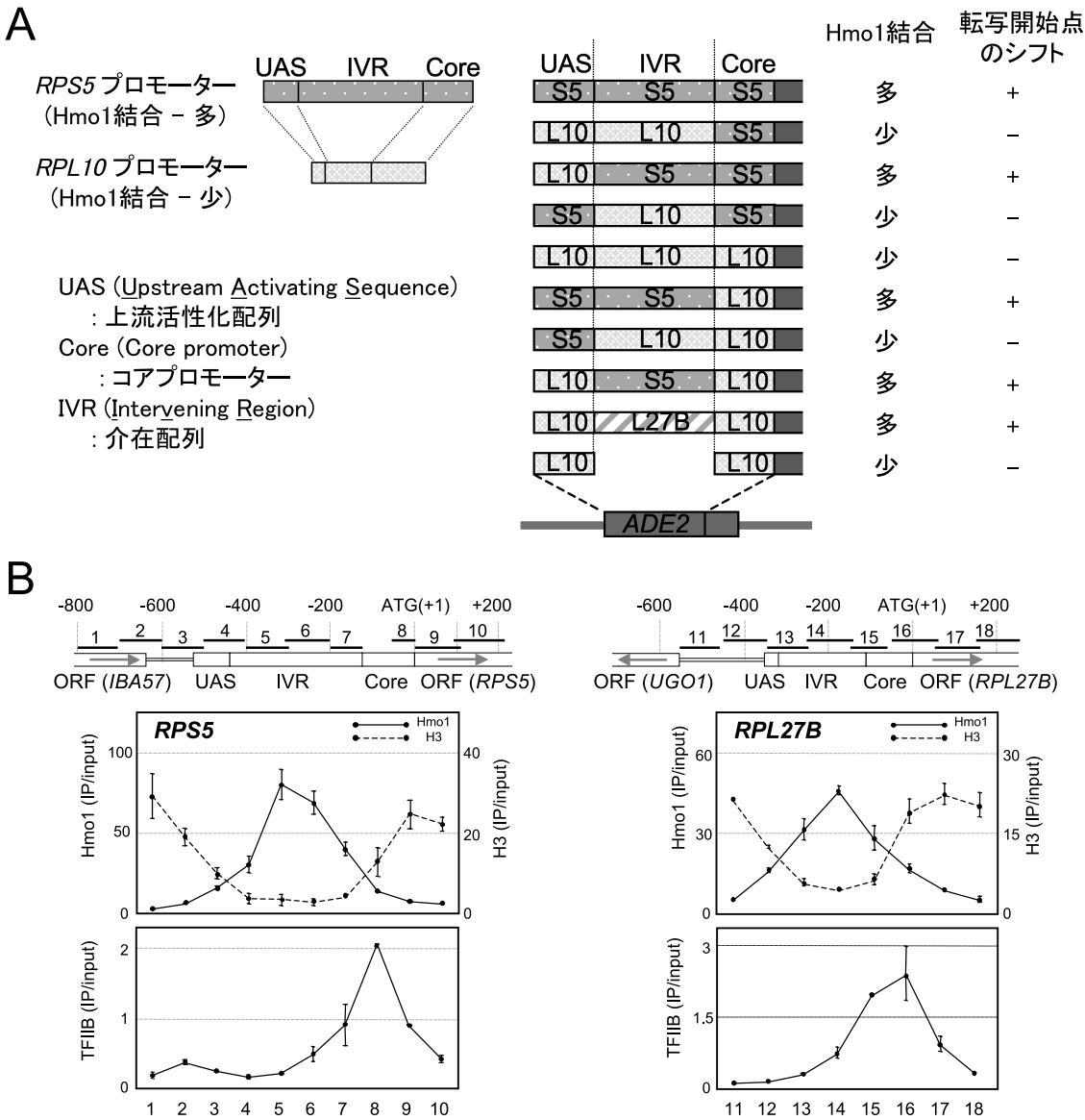


図2 *RPS5*、及び *RPL27B* 遺伝子プロモーターにおける Hmo1 結合、転写開始点シフトに関わる領域の同定

A. *RPS5*、及び *RPL10* プロモーターを UAS, IVR, Core に分割し、それらを様々な組み合わせで入れ替えたキメラプロモーターを染色体の *ADE2* 領域に組み込んだ。これらのレポーター株を用いて ChIP 法、プライマー伸長法による解析を行い、Hmo1 の結合や $\Delta hmo1$ による転写開始点のシフトに関わる領域の同定を行った。

B. *RPS5*、及び *RPL27B* プロモーターにおける Hmo1, PIC (TFIIB)、及びヌクレオソームの結合位置を高分解能 ChIP 解析により決定した。それぞれの遺伝子の翻訳開始コドンの位置を +1 とし (図中には ATG(+1) と表記し、グレイの矢印で ORF の方向を示した)、その上流側のプロモーターを UAS, IVR, Core に分割して示した。隣にある遺伝子 (プロモーター側のみ) についても、ORF とその方向のみ示した。プロモーターの上に記した 1~18 の数字 (下線付き) は、ChIP 解析において増幅される領域を示しており、ChIP の定量結果のグラフの横軸にある数字に対応している。

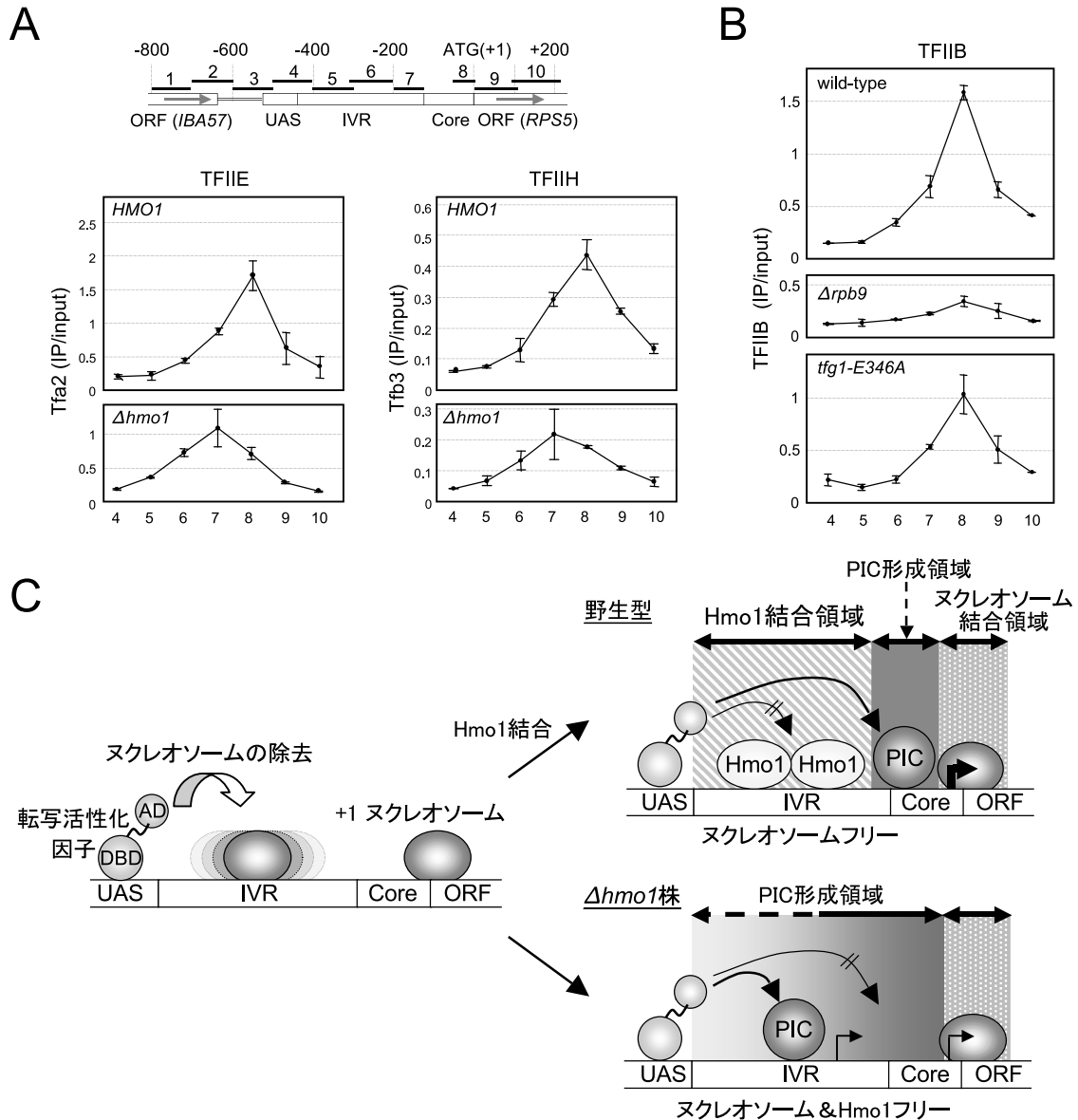


図3 Hmo1は+1ヌクレオソームとともにPIC形成可能な領域を限局する。

A. 野生株 (*HMO1*)、及び $\Delta hmo1$ 株において、PICの構成因子である基本転写因子 TFIIIE (Tfa2 サブユニット)、及び TFIIH (Tfb3 サブユニット) の *RPS5* プロモーター上における結合位置を高分解能 ChIP 法により解析した (図については図2Bの説明を参照)。その結果 *HMO1* の欠失により PIC の形成位置が8の領域から7の領域へとシフトすることが明らかとなった。

B. ChIP 法による TFIIB の結合位置の解析を、Pol II、及び TFIIIF のサブユニットの変異株 (それぞれ $\Delta rpb9$, *tfg1-E346A*) において行ったところ、*RPS5* プロモーター上の PIC 結合位置に変化は見られなかった。

C. Hmo1 による PIC 結合位置、及び転写開始点の決定機構に関するモデル (本文参照)。(DBD; DNA binding domain, AD; activation domain)

る転写開始点のシフトが起こらない *RPL10* の二つのプロモーターをそれぞれ、転写活性化因子の結合する上流活性化配列 (UAS: upstream activating sequence), PIC が重合するコアプロモーター (Core), 及び両者の間に介在する機能未知の領域 (IVR: intervening region と命名) に三分割し、それらを互いに入れ替えたキメラプロモーターを染色体に組み込み、ChIP 解析、及びプライマー伸長法により、Hmo1 結合の多少、及び $\Delta hmo1$ による転写開始点のシフトに必要な領域の特定を行った。その結果、*RPS5* 由来の IVR を持つプロモーターでのみ強い Hmo1 結合と転写開始点の変化が観察された (図 2A)。続いて行った高分解能 ChIP 解析の結果、複数分子の Hmo1 が同時に *RPS5* の IVR に結合していることが明らかになった¹⁴⁾。一方、同様の高分解能 ChIP 解析により、ヌクレオソーム (ヒストン H3), 及び PIC の構成因子である基本転写因子 TFIIB (Sua7) の結合位置を調べたところ、興味深いことにヌクレオソームは Hmo1 と異なり、IVR (及び Hmo1) を避けるように結合しており、PIC は Hmo1 と下流のヌクレオソームの中間に結合することが明らかになった。同様のことは Hmo1 の他の標的遺伝子である *RPL27B* においても観察された (図 2B)。これら三者の並びから著者は、Hmo1 とヌクレオソームが、それぞれ PIC が重合すべき領域の 5', 及び 3' 側の境界を規定することにより、PIC の結合を正しい領域へと局限しているのではないかと考えた。そこで $\Delta hmo1$ 株における PIC の結合位置を基本転写因子 TFIIE (Tfa2 サブユニット), 及び TFIIF (Tfb3 サブユニット) の ChIP 解析により調べたところ、予想通り PIC 結合のピークは Hmo1 結合の失われた IVR 内部へと移動していることが明らかになった (図 3A)。一方、ヌクレオソームの結合位置については、 $\Delta hmo1$ 株でもそれほど大きな変化は見られなかった。以上の結果をもとに著者は、Hmo1 が UAS に結合した転写活性化因子 (おそらく Rap1) の働きによりヌクレオソームが除去された IVR を覆う形で結合し、IVR 内への非特異的な PIC 結合と、それに伴う異常な転写開始を抑制するという新規な転写開始点決定機構のモデルを提示するに至った (図 3C)¹⁴⁾。このことはとりもなおさず、 $\Delta hmo1$ 株における転写開始点のシフトが PIC 形成前の異常に起因することを意味している。これに対し TFIIF や Pol II の変異株 (それぞれ *tfg1-E346A*, $\Delta rpb9$) では PIC の結合位置に変化は見られず、これらの株で観察される転写開始点の変化は PIC 形成後の異常に起因することが併せて確かめられた (図 3B)。

6. おわりに—転写開始制御における新しい概念

近年、ChIP-seq 法などの新しい技術により、真核生物の全ゲノム上のヌクレオソームの結合位置が網羅的に決定されるようになり、その結果大部分の遺伝子プロモーターにおいて、上流側からそれぞれ -1, +1 ヌクレオソームと呼ばれる二つのヌクレオソームと、両者に挟まれた比較的広い「ヌクレオソームの無い領域 (NFR: nucleosome free region)」の存在が明らかになってきた。これら二つのヌクレオソームは、転写開始点からの距離がほぼ一定にあることから、その位置決定に何らかの役割を果たすものと考えられている¹⁵⁾。例えば、PIC 形成可能な領域を NFR 内に局限したり、これらヌクレオソームのヒストン修飾 (アセチル化、メチル化など) が、プロモドメインや PHD ドメインとの相互作用を介して PIC 構成因子を特定の場所にリクルートするといった可能性が指摘されている。しかし、ヌクレオソームを構成するヒストンは生育に必須であるため、遺伝子破壊などによる検証はなされていない。一方、著者らの結果は、一部の RP 遺伝子では Hmo1 が -1 ヌクレオソームに替わって IVR に結合し、+1 ヌクレオソームとともに PIC の結合可能な領域を局限することにより生物学的に適切な位置からの転写を促進することを示すものである。我々の知る限りこのような PIC 結合領域の物理的な境界の存在や、それをヌクレオソーム以外の因子が担っていることを実験的に示した例は過去にない。このような PIC 結合位置の決定機構は、従来の (TATA 配列などの) *cis* エレメントの特異的認識を介したものと概念的に異なるものであり、両者が互いに補完的に働くことにより PIC の形成に高い特異性を与えているのではないかと想像される。このような役割を担う因子についての報告は、他の生物も含め現在までに例がないが、類似の仕組みが他の遺伝子、あるいは他の生物種でも形を変えて普遍的に働いているのではないかと考えている。

なお、Hmo1 のもう一つの主要な標的である 35S rRNA 遺伝子 (約 150 リピートが 12 番染色体に存在する) においては、活発に転写されている約半数のリピートに Hmo1 が、転写されていない残り半数にはヌクレオソームが、それぞれ結合するという興味深い結果が Griesenbeck らにより報告されており¹⁶⁾、Hmo1 は、転写が活発なリピートに特異的な染色体構造因子として、35S rRNA 遺伝子の効率のよい発現に寄与するものと考えられている。と同時に著者らは、Hmo1 が Pol I, Pol II という異なる転写系を共通の標的とすることにより、リボソームの協調的な生合成制

御に重要な役割を果たしているのではないかと期待している。

謝辞 本研究は横浜市立大学生体超分子創製科学研究室にて行ったものであり、多大なる御助力を賜りました古久保哲朗教授を始め、室員の皆様、並びに共同研究者の皆様に厚く御礼申し上げます。

- 1) Warner, J.R. (1999) *Trends Biochem. Sci.*, 24, 437-440.
- 2) Morse, R.H. (2000) *Trends Genet.*, 16, 51-53.
- 3) Piña, B., Fernández, L.J., García, R.N., & Idrissi, F.Z. (2003) *Mol. Genet. Genomics*, 268, 791-798.
- 4) Martin, D.E., Soulard, A., & Hall, M.N. (2004) *Cell*, 119, 969-979.
- 5) Hall, D.B., Wade, J.T., & Struhl, K. (2006) *Mol. Cell. Biol.*, 26, 3672-3679.
- 6) Kasahara, K., Ohtsuki, K., Ki, S.W., Aoyama, K., Takahashi, H., Kobayashi, T., Shirahige, K., & Kokubo, T. (2007) *Mol. Cell. Biol.*, 27, 6686-6705.
- 7) Lempiäinen, H., Uotila, A., Urban, J., Dohnal, I., Ammerer, G., Loewith, R., & Shore, D. (2009) *Cell*, 133, 704-716.
- 8) Jorgensen, P., Rupeš, I., Sharom, J.R., Schnepfer, L., Broach, J. R., & Tyers, M. (2004) *Genes Dev.*, 18, 2491-2505.
- 9) Gadal, O., Labarre, S., Boschiero, C., & Thuriaux, P. (2002) *EMBO J.*, 21, 5498-5507.
- 10) Kasahara, K., Ki, S.W., Aoyama, K., Takahashi, H., & Kokubo, T. (2008) *Nucleic Acids Res.*, 36, 1343-1357.
- 11) Hampsey, M. (2006) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 13, 564-566.
- 12) Khapersky, D.A., Ammerman, M.L., Majovski, R.C., & Ponticelli, A.S. (2008) *Mol. Cell. Biol.*, 28, 3757-3766.
- 13) Eichner, J., Chen, H.T., Warfield, L., & Hahn, S. (2010) *EMBO J.*, 29, 706-716.
- 14) Kasahara, K., Ohya, Y., & Kokubo, T. (2011) *Nucleic Acids Res.* (in press).
- 15) Jiang, C. & Pugh, B.F. (2009) *Nat. Rev. Genet.*, 10, 161-172.
- 16) Merz, K., Hondele, M., Goetze, H., Gmelch, K., Stoeckl, U., & Griesenbeck, J. (2008) *Genes Dev.*, 22, 1190-1204.

笠原 浩司

(東京農業大学応用生物科学部アイソトープセンター)

Novel regulatory mechanisms for transcriptional initiation of ribosomal protein genes in *S. cerevisiae*

Koji Kasahara (Tokyo University of Agriculture, Faculty of Applied Biosciences, Isotope Center, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502, Japan)

未知・未培養微生物由来の遺伝子資源の探索

1. はじめに

最近の研究によると、地球上には約 5×10^{30} 個の微生物が生息しており、地球上のバイオマスの半分に相当すると言われている¹⁾。分子生物学の発達によって DNA レベルで微生物を検出することが可能になり、環境中には従来の微生物の分離・培養技術では検出することができなかった非常に多くの種類の未知微生物が存在している可能性を示すデータが得られている²⁾。我々は、これまでに微生物の分離・培養技術の改良や、「メタゲノム法」という微生物資源に対する新しいアプローチによって、未知微生物や遺伝子、酵素の探索を行ってきた。

2. ダイオキシン化合物を分解する環境微生物の分離と解析

我々は、ダイオキシンを分解する微生物に関する研究を行っている。ダイオキシンは、二つの芳香環がエーテル結合した化合物であり、このような芳香環に塩素が置換した化合物は、ヒトに対する催奇性や発がん性が指摘されている³⁾。環境中へ放出されたダイオキシンは、一般的には低濃度であるが、食物連鎖による生物濃縮が起こることから、環境汚染物質として排出規制や浄化の対象になっている。

環境中に放出されたダイオキシン化合物が生分解されることは報告されているが、ダイオキシンを分解する微生物そのものの分離に成功した例は僅かであった^{4,5)}。そこで、我々は、ダイオキシンを分解する微生物の探索を行い、鹿児島県の離島から採取した土壌より、ダイオキシンを分解するユニークな微生物の分離に成功した⁶⁾。我々が分離したダイオキシン分解菌 *Rhodococcus opacus* SAO101 株は、ダイオキシンやジベンゾフランなど、単環や複素環の化合物を唯一の炭素源として生育する非常にユニークな微生物である。特筆すべきは、塩素化ダイオキシン (chlorinated dibenzo-*p*-dioxin (CDD)) に対して分解活性を有していることであり、一つの塩素が置換された塩素化ダイオキシン化合物 1-CDD を完全に分解することができる。また、分離した SAO101 株は毒性の高い三つの塩素が置換した塩素化ダイオキシンに対しても分解活性を示した⁶⁾。