

放線菌が生産する小型ラッカーゼ

日本大学生物資源科学部教授

上 田 賢 志

1. 微生物によるリグニンの分解

リグニンは、セルロース及びヘミセルロースとともに木材の基本骨格を形成する主要成分であり、フェニルプロパン単位（図1）を基本構造に有する高分子化合物である¹⁾。その複雑な網目状の構造は、木材中において繊維間を強固に接着することで植物体の強度を大幅に上昇させている。また、微生物による分解を受けにくくすることで、植物体が腐敗するのを防ぐ役割も担っているとも考えられている。自然界において木材の腐朽に時間がかかるのは、このリグニン接着による難分解性のためである。一方で、植物バイオマスの有効利用の観点からは、植物体を容易に分解できることが望ましく、リグニンの分解を効率化する手法の開発が関連の研究における中心的な課題のひとつになっている。

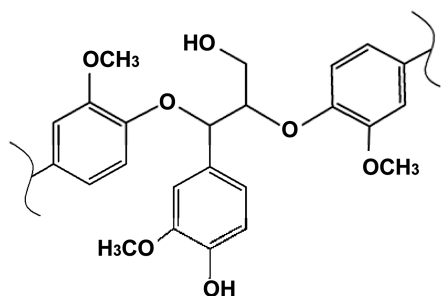


図1 フェニルプロパンを含むリグニンの部分構造。

木材の腐朽能を有する微生物として、木材腐朽菌と総称される菌類が古くから知られており、それらには担子菌類、子囊菌類および不完全菌類が含まれる^{2,3)}。中でも、白色腐朽菌（white rot fungi）や褐色腐朽菌（brown rot fungi）などの担子菌類に強い木材腐朽活性があることが知られている。白色腐朽菌はセルロース・ヘミセルロースおよびリグニンの全ての木質成分を分解する能力を有するが、褐色腐朽菌は3成分のうちリグニンを分解する能力が弱い。一方、子囊菌や不完全菌に含まれる軟腐朽菌（soft rot fungi）と称される菌群は、白色腐朽菌や褐色腐朽菌が分解できない高含水率の木材の表面に作用してそれを軟化する能力を有している。これらの異なる特性を有する菌群の協同的な作用が中心になって、進行に時間を要しつつも枯死した植物体の分解が進行すると理解されている。

高分子リグニンの初期の分解において中心的役割を果たしている白色腐朽菌は、リグニンパーオキシダーゼ、マンガンパーオキシダーゼ、パーサタイルパーオキシダーゼ（リグニンパーオキシダーゼとマンガンパーオキシダーゼのハイブリッド型酵素）およびラッカーゼの4種の酵素を生産・分泌することが知られている³⁾。3種のパーオキシダーゼはいずれも過酸化水素を電子受容体とする触媒サイクルを通じてリグニン分子を酸化する。一方、ラッカーゼは酸素（O₂）を電子受容体として、水分子（H₂O）にまで4電

子還元する過程でフェノール性基質を酸化する。

リグニン分解に関与する酵素は、上述のような特性から、主に白色腐朽菌をはじめとする菌類に主に分布すると考えられてきた。しかし、放線菌 *Streptomyces griseus* が生産・分泌するラッカーゼ様酵素EpoAを筆者らが発見した^{4,5)}ことを契機に、バクテリアである本菌群にもリグニン分解に関与する酵素が広く分布していることが明らかになろうとしている。

2. 放線菌

放線菌は、主に土壤に生息するグラム陽性のバクテリアである^{6,7)}。*Streptomyces*を主要な属とする糸状性の形態をもつ本菌群は、カビに類似した複雑な生活環を有する(図2)。胞子が発芽すると、多核性の栄養細胞である基底菌糸の伸

長がはじまる。基底菌糸はやがて栄養条件などの環境変化に応じて伸長を停止し、気中菌糸と呼ばれる新たな細胞を空中に向かって分岐、伸長させる。その後、気中菌糸は一定間隔でおこる隔壁形成によって、胞子が数珠状に連なった胞子鎖へと分化する。成熟した胞子は分散し、やがてまた発芽して新しいサイクルを開始する。

放線菌の特徴は、上記のような複雑な細胞分化を行うこととともに、多様な二次代謝産物を生産することにある^{8,9)}。1947年にアメリカのワクスマンらによって*S. griseus* から結核の特効薬である抗生物質ストレプトマイシンが発見されて以来、数々の抗生物質ならびに抗がん剤を含む各種の生理活性物質がこのグループのバクテリアが生産する二次代謝産物の中に見いだされてきた。現在までに知られている天然の生理活性物質の6-7割が放線菌に由来しているといわれ

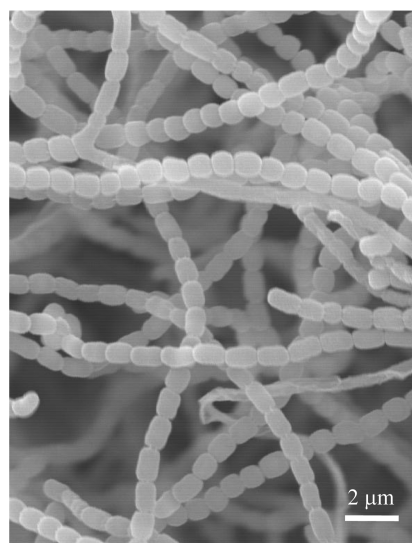
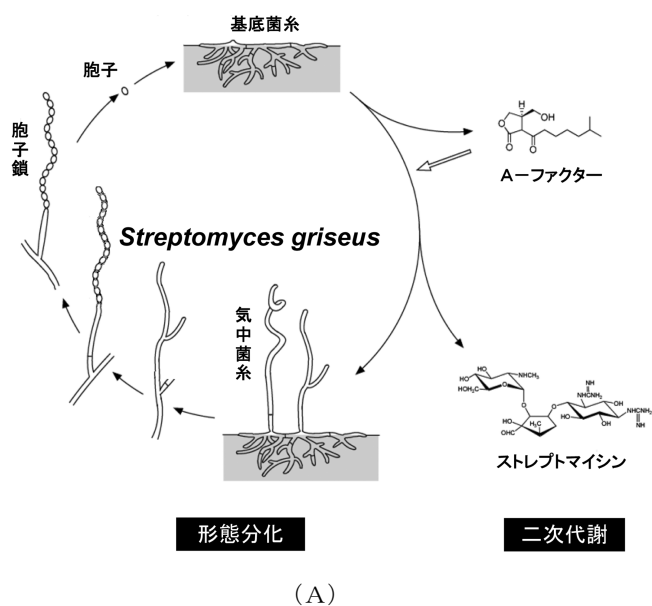


図2 放線菌 *S. griseus* の生活環 (A) と胞子鎖の走査型電子顕微鏡像 (B)。

ている。

このようにユニークかつ有用な特性を有することから、放線菌を効率的に取得するための選択的分離法が工夫されてきた。本菌群が土壤中で腐生的な増殖をしていることに着目した山梨大学の早川らは、フミン酸（植物が枯死して生成する腐植質のうち、酸に不溶でアルカリに可溶な画分の総称）を単一炭素源とする培地を考案した¹⁰⁾。加熱などの前処理を施した土壤試料をこの培地に塗布・培養することで、富栄養培地では分離しにくいタイプの放線菌も続々と分離されるようになった。本法による放線菌コロニーの分離の様子を図3に示した。

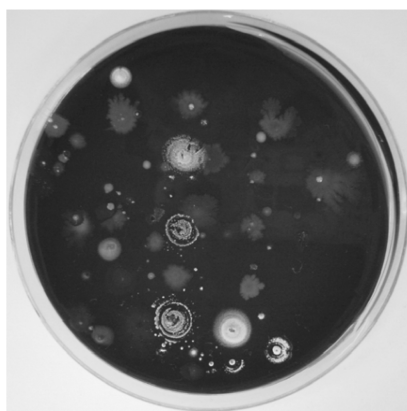


図3 フミン酸培地を用いた放線菌の分離の様子。風乾させた土壌を少量塗布し、28℃にて5日間培養したもの。白くけば立った形状をしたものが放線菌のコロニー。

放線菌の細胞分化と二次代謝は、遺伝的に密接に関わっていることが知られている。基底菌糸から気中菌糸への分化能が欠損した変異株を取得すると、同時に抗生物質などの生産能も失った株が多く得られる。これは、形態分化の開始と二次代謝産物合成の開始を同時に制御している信号伝達系が存在することを示唆している。

実際に、モデル株である*Streptomyces coelicolor* A3(2)を用いた遺伝学的な解析において、形態分化と抗生物質生産を共通してコントロールする複数の制御遺伝子が同定されている⁷⁾。そうした特性から、二次代謝産物の合成も放線菌が行う分化の一つの体系であると捉える考え方があり、形態上の分化（morphological differentiation）に対して生理上の分化（physiological differentiation）と表現されることがある。

放線菌の形態分化と二次代謝が制御的に連携していることを示すユニークな具体事例が、上記のストレプトマイシン生産菌 *S. griseus* において知られている。本菌は、A-ファクター（auto-regulatory factor; 自己調節因子）と称される γ -ラクトン化合物を生産し、それが動物におけるホルモンと類似の働きをすることで、基底菌糸から気中菌糸への形態分化ならびにストレプトマイシンをはじめとする二次代謝産物の生合成を誘導する（図2 A）。A-ファクターが形態分化と二次代謝のスイッチを一斉にオンにするメカニズムは、分子生物学的な検証を通じて詳しく理解されている^{11, 12)}。現在では、類似の γ -ラクトン化合物による遺伝制御機構が広く放線菌に分布し、特に二次代謝の誘導に関与していることが知られている¹³⁾。

3. *S. griseus* が生産するラッカーゼ様酵素EpoAの発見

筆者らは、放線菌の形態分化の制御に関する研究を実施する過程において、*Streptomyces tanashiensis*の気中菌糸形成が銅イオンの添加によって顕著に誘発される現象を見いだした¹⁴⁾。同様の誘発現象は*S. griseus* においても認められ、さら

に銅イオンの添加はこの菌のメラニン生成も顕著に促進した。そこで、銅に活性を依存するフェノール酸化酵素を活性染色法によって探索したところ、dimethoxyphenolを酸化する強い活性が見いだされた⁵⁾。アミノ酸分析の結果を基にして遺伝子が同定された本酵素は、ラッカーゼに相同性を示す新しい酵素であった。アミノ末端にシグナル配列が存在したことから分泌酵素であると予想され、実際に*S. griseus*の細胞外画分に顕著な酵素活性が認められた。細胞表層に結合して存在している可能性が示唆されたことから、本酵素はEpoA (extracytoplasmic phenol oxidase A) と命名された⁴⁾。

EpoAは、ラッカーゼと同様にチロシンは酸化しないがdihydroxyphenylalanine (DOPA)は酸化する性質を示した⁵⁾。EpoAによるDOPA酸化物は、酸化重合によりメラニン様の色調を呈したが、そこに含まれる無色の低分子画分に*S. griseus*ならびにいくつかの*Streptomyces*の気中菌糸形成を促進する活性が認められた⁴⁾。現在までにその気中菌糸誘導活性物質の本体は明らかになっていないが、チロシンの酸化重合により生成した合成メラニン中にも類似の活性が検出されたことから、チロシンやDOPAの酸化重合によって生じるおそらく特定の低分子キノンに*Streptomyces*の気中菌糸形成を誘発する活性があるものと思われる。ここで想定される分子は、EpoAならびに*Streptomyces*に広く分布するチロシン酸化酵素チロシナーゼの活性によって生成する普遍的な物質である可能性が高い。カビやキノコの形態分化においてもラッカーゼ活性が色素産生や細胞形態の分化において重要な役割を果たすことが知られている¹⁵⁾。

4. 2-ドメイン型の小型ラッカーゼ

ラッカーゼ (EC 1.10.3.2) は、酸素分子を水分子へと還元しながら多様なフェノール化合物を酸化する特性を有する酵素であり、バイオマス利用の技術開発上の重要性から、白色腐朽菌に分布するものを中心にその性質が調べられてきた³⁾。ラッカーゼは、マルチカッパーオキシダーゼ (multi-copper oxidase) と総称される銅を含有する酸化酵素の一種であり、銅イオンの配位に関与する蛋白分子中の部位 [BCB (blue-copper-binding) サイト] と、蛋白分子間の部位 [IDCB (interdomain copper-binding) サイト] を有する¹⁶⁾。前者に結合した状態の銅イオンはType 1、後者に結合した状態の銅イオンはType 2 およびType 3 と呼ばれる。

マルチカッパーオキシダーゼには、銅の配位に関与する互いに相同なドメインが蛋白1分子中に2つ (2-ドメイン型)、3つ (3-ドメイン型) ならびに6つ (6-ドメイン型) 存在するタイプが知られており、古くから知られるラッカーゼは、3-ドメイン型に分類される。一方、*S. griseus* が生産する EpoA は、2-ドメイン型の酵素であった¹⁵⁾。

Nakamura (2003) ら¹⁶⁾ は、マルチカッパーオキシダーゼの多様性が生み出された進化的背景を図4のように推測している。共通祖先であるキュブレドキシン様の蛋白質 (蛋白分子内にType 1銅が結合) が、ドメイン重複と3量体形成、さらに一部のドメインの欠失などを経て、上述の3つのタイプのドメイン型を生み出したとするものである。亜硝酸還元酵素を含む他の2-ドメイン型酵素と同様に、EpoAはホモ3量体を形成することがわかっている⁵⁾。これまでに、いくつかの

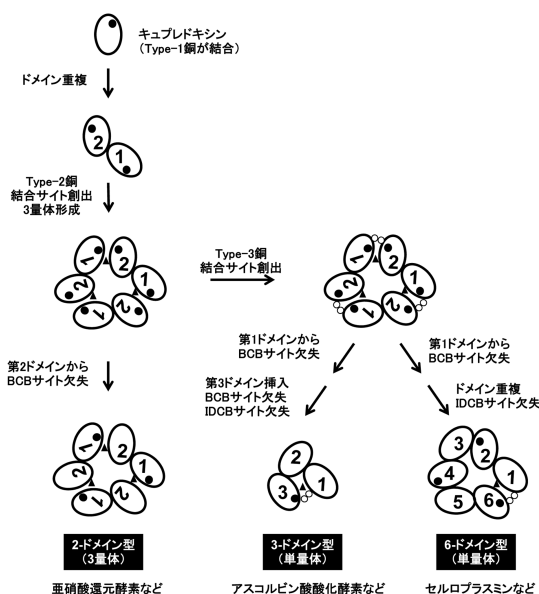


図4 Nakamura ら¹⁵⁾ によるマルチカッパーオキシダーゼの多様化モデル。図は文献中のものを改変して作成した。黒丸, Type-1銅; 黒三角, Type-2銅; 白丸, Type-3銅。Type-1銅は分子内結合サイト (BCBサイト) に、Type-2とType-3銅は分子間結合サイト (IDCBサイト) にそれぞれ結合する。

EpoA相同蛋白質・ホモ3量体の立体構造がX線結晶構造解析により明らかにされており (図5)、特に *S. coelicolor* A3(2) の酵素については、その構造と酵素学的特性ならびに酸化反応に伴う電子伝達の詳細が調べられている¹⁷⁻²⁰⁾。現在では、EpoAに相同な2-ドメイン型のラッカーゼは小型ラッカーゼ (small laccase, SLAC) と総称されている。

5. 放線菌における小型ラッカーゼの分布

EpoAの発見当初、原核生物が生産するラッカーゼ様のマルチカッパーオキシダーゼは、EpoAの

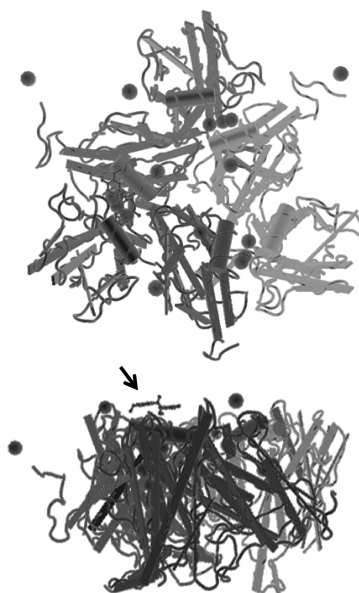


図5 希少放線菌 *Amycolatopsis* 由来の小型ラッカーゼホモ3量体の立体構造。リグニンモデル基質であるLM-OMe [1-(3, 4-Dimethoxyphenyl)-2-(2-methoxyphenoxy)-1, 3-dihydroxypropane] (図中矢印) との複合体 (PDB ID, 3TA4)。立体構造表示ソフトCn3Dを用いて水平・垂直の2方向から見た様子。

他に海洋細菌 *Marinomonas* が生産するPpoA²¹⁾ と、枯草菌 *Bacillus subtilis* の胞子表層に結合して存在するCotA²²⁾ の2つが知られるのみであったが、その後のゲノム解読の進展によって特に *Streptomyces* 属に広く分布していることが明らかになった。

図6に、代表的な小型ラッカーゼの銅結合領域を3-ドメイン型のそれと比較したものを示した。*Streptomyces* に分布する小型ラッカーゼは、蛋白質全体にわたって互いに極めて相同性が高く、図に示した4つの銅結合領域はほぼ同一の配列を有していることがわかる。一方、3-ドメイン型における同配列には多様性が認められる。

	cbr-I	cbr-II	cbr-III	cbr-IV	
<i>S. griseus</i>	99ASLEVHG	152YWHYHDEHV	231ETFHIG	287HCHVQSHSD	2-ドメイン型 (SLAC)
<i>S. coelicolor</i> A3(2)	99ASLEVHG	152YWHYHDEHV	231ETFHMG	285HCHVQSHSD	
<i>S. ghanaensis</i>	94VSLVHG	147YWHYHDEHV	226ETFHIG	282HCHVQSHSD	
<i>S. scabiei</i>	103ASLEVHG	156YWHYHDEHV	235ETFHMG	291HCHVQSHSD	
<i>S. viridochromogenes</i>	94VSLVHG	147YWHYHDEHV	226ETFHMG	282HCHVQSHSD	
<i>S. roseosporus</i>	99VSLVHG	152YWHYHDEHV	231ETFHIG	287HCHVQSHSD	
<i>S. hygroscopicus</i>	140SVTEVHG	180ALWYHDEHV	500ETPMHIL	578HCHILEHED	
<i>S. antibioticus</i>	128SVTEVHG	166QWYHDEHV	494ETPMHIL	572HCHLLEHED	3-ドメイン型
<i>C. versicolor</i>	92TSIEVHG	126TFWYHSHLS	416ETPFHIG	473HCHIDHLE	
<i>N. crassa</i>	141TSIEVHG	185TSWYHSHFS	477ETPIHIG	448HCHIAHVS	
<i>A. nidulans</i>	76TTVEVHG	119TFWYHSHYK	508ETPIHIG	585HCHIASHOM	

図6 *Streptomyces*属に分布する2-ドメイン型（小型ラッカーゼ，SLAC）および3-ドメイン型ラッカーゼの銅結合領域（cbr-I-IV）のアミノ酸配列比較. 3種のカビ（*C.*, *Coliorus*; *N.*, *Neurospora*; *A.* *Aspergillus*）に由来する3-ドメイン型ラッカーゼ中の対応配列も共に表示した。

完全長ゲノムシーケンスデータベース (<http://genome.ne.jp>) を検索した結果、EpoAに相同性を示すSLACは14種の*Streptomyces*と7種の希少放線菌（*Saccharomonospora viridis*, *IsotERICOLA variabilis*, *Actinoplanes friuliensis*および4種の*Amycolatopsis* spp.）に分布していた。これら21種の株に分布するEpoA相同蛋白間の配列相同性が極めて高いこと、逆にそれ以外の放線菌属には相同性を示す蛋白質は分布していないことから、本酵素機能の構造特異性は比較的高く、一部の放線菌の環境動態において有為な役割を果たしているものと予想される。

EpoA相同蛋白質をコードする遺伝子は、いずれも機能不明の2つの遺伝子と隣接して存在している（図7）。この遺伝子クラスターの構造は2つに分けられ、14種の*Streptomyces*では全て*epoA*遺伝子と逆向きに2つの遺伝子が、希少放線菌群では*epoA*を先頭に3つの遺伝子がオペロン構造を形成していた。*epoA*の隣にコードされる蛋白質には糖の資化に関与するドメインが含まれており、*Streptomyces*属のものと希少放線菌群のそれとで大きさが異なっていた。3つめの遺伝子がコードする蛋白質は、機能が明らかな構造は有してい

なかった。現在までにこの遺伝子クラスターの役割は不明であるが、植物体由来の高分子の分解・代謝に関与している可能性が考えられる。Majumdarら¹⁸⁾は、*S. coelicolor* A3(2)において*epoA*相同遺伝子を人為的に破壊した株を作成した結果、そのリグニン分解性が親株のそれと比較して低下していたと報告している。

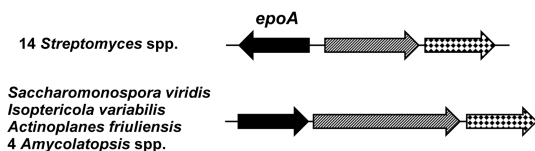


図7 放線菌ゲノムに分布する*epoA*相同遺伝子クラスター. EpoAに相同性を示すSLACをコードする遺伝子（黒矢印）と隣接する2遺伝子の配置を模式的に示した。斜線矢印の遺伝子は糖の資化に関与するドメインを有する蛋白質を、黒点矢印の遺伝子は機能未知の蛋白質をそれぞれコードしている。斜線矢印の遺伝子は*Streptomyces*に分布するものと希少放線菌に分布するもので大きさが異なっている。*epoA*相同遺伝子を有する14種の*Streptomyces*では全て*epoA*と逆向きに2遺伝子が並んでいる。一方、4属の希少放線菌では、3つの遺伝子が同じ向きに存在し、オペロンを形成していると推測される。

6. 小型ラッカーゼの可能性

ラッカーゼがもつ酵素学的特性とそのリグニン分解への適用性は、これまで主に真菌に分布している3-ドメイン型のラッカーゼについて検討されてきた。しかし、概してこれらの酵素は大腸菌をはじめとする細菌宿主では発現効率が低いという問題点があった。*Pichia*や*Saccharomyces*属酵母ならびに*Aspergillus*属糸状菌などの真核生物宿主を用いてその組換え体の作成が試みられてきたが、依然として発現効率は低く、また天然の生産菌による酵素の調製も、長い時間をかけて培養を行う必要がある点でやはり効率が低い。一方、細菌に分布する小型ラッカーゼは大腸菌における高効率での発現と精製が可能であることから、近年急速にその検証が進められている。

Ilhsenら²³⁾は、*Streptomyces*属と*Bacillus*属ならびにグラム陰性の細菌に分布する小型ラッカーゼの代表的なものについて、その組換え体が大腸菌を宿主に用いて発現させ、性能を評価している。その結果、*Bacillus*属に分布するCotAタイプの小型ラッカーゼの組換え酵素が高い活性を有し、多様な芳香族化合物を酸化する活性を示したと報告している。一方、いくつかの研究グループは、*Streptomyces*属に由来する小型ラッカーゼがアゾ色素やインディゴ色素の脱色に対し有為な活性を示すことを報告している^{17, 24, 25)}。

Luら²⁶⁾は、農業残渣の堆肥化の過程における小型ラッカーゼの動態を調査したところ、*Streptomyces*に分布する同酵素に近縁な酵素遺伝子が多数検出されたと述べている。また、堆肥中に存在するこれらの遺伝子のコピー数が、同堆肥中におけるフェノール酸化酵素活性ならび

にリグノセルロースの分解効率に対して正の相関を示したとも報告している。これらの観察は、植物残渣の分解・堆肥化の過程において*Streptomyces*属がその小型ラッカーゼの活性発現を通じて重要な役割を果たしている可能性を強く示唆するものである。

7. 放線菌による腐植代謝の多様性

土壤中で腐生的な増殖を行っていると考えられる放線菌は、主に枯死した植物体由来の有機物を分解してエネルギーを得ていると想像される。実際に、腐植酸を単一炭素源に用いた培地上には多様な放線菌が増殖する。筆者らがその最初の例を発見した小型ラッカーゼは、現在では広く放線菌に分布することが知られるようになり、それが実際に植物バイオマスの代謝において重要な役割を果たしている可能性が強く示唆されている。

一方で、筆者らは最近、*Streptomyces*属によって生産・分泌される2-ドメイン型のラッカーゼとは異なる酸化酵素にも芳香族化合物に対する酸化活性が認められることを見いだしている（未発表）。また、逆に、腐植質に含まれる特定の構造を還元する酵素活性が放線菌の細胞外に広く認められることも明らかにしつつある²⁷⁾。植物リグニンに由来する芳香族化合物は、エネルギー代謝の基質としてだけでなく、電子伝達における電子運搬体としての役割も果たしている可能性があり、微生物群集の構築に深く関わるグローバルかつ多面的な環境因子として機能しているものと推測される。それぞれの代謝に関与する酵素とその作用メカニズムを詳細に理解することは、バイオマス利用技術の支持基盤として、

また生態系構造原理に関する基礎知見として重

要であると筆者らは考えている。

文 献

1. 松本雄二. 2013. リグニン利用研究の現状. *木材工業技術短信* **31**, 13-21.
2. 近藤隆一郎. 2013. 種々の手法によるリグニンの分解. *リグニン利用の最新動向*. 坂志朗 監修, シーエムシー出版, 東京.
3. 渡辺隆司. 2012. リグニン分解酵素. *バイオマス分解酵素研究の最前線*. 近藤昭彦, 天野良彦, 田丸浩 監修, シーエムシー出版, 東京.
4. Endo, K., Hosono, K., Beppu, T. & Ueda, K. 2002. A novel extracytoplasmic phenol oxidase of *Streptomyces*: its possible involvement in the onset of morphogenesis. *Microbiology* **148**, 1767-1776.
5. Endo, K., Hayashi, Y., Hibi, T., Hosono, K., Beppu, T. & Ueda, K. 2003. Enzymological characterization of EpoA, a laccase-like phenol oxidase produced by *Streptomyces griseus*. *J Biochem* **133**, 671-677.
6. Chandra, G. & Chater, K. F. 2014. Developmental biology of *Streptomyces* from the perspective of 100 actinobacterial genome sequences. *FEMS Microbiol Rev* **38**, 345-379.
7. Chater, K. F., Biro, S., Lee, K. J., Palmer, T. & Schrempf, H. 2009. The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS Microbiol Rev* **34**, 171-198.
8. 放線菌の分類と同定. 2000. 日本放線菌学会 編, 日本学会事務センター, 東京.
9. Liu, G., Chater, K. F., Chandra, G., Niu, G. & Tan, H. 2013. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. *Microbiol Mol Biol Rev* **77**, 112-143.
10. 早川正幸, 野々村英夫. 1993. 土壌放線菌の選択分離法, 毎日学術フォーラム, 東京.
11. Horinouchi, S. 2007. Mining and polishing of the treasure trove in the bacterial genus *Streptomyces*. *Biosci Biotechnol Biochem* **71**, 283-299.
12. Horinouchi, S. & Beppu, T. 2007. Hormonal control by A-factor of morphological development and secondary metabolism in *Streptomyces*. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* **83**, 277-295.
13. Takano, E. 2006. Gamma-butyrolactones: *Streptomyces* signalling molecules regulating antibiotic production and differentiation. *Curr Opin Microbiol* **9**, 287-294.
14. Ueda, K., Tomaru, Y., Endoh, K. & Beppu, T. 1997. Stimulatory effect of copper on antibiotic production and morphological differentiation in *Streptomyces tanashiensis*. *J Antibiot* **50**, 693-695.
15. Kues, U. & Ruhl, M. 2011. Multiple multi-copper oxidase gene families in basidiomycetes - what for? *Curr Genomics* **12**, 72-94.
16. Nakamura, K., Kawabata, T., Yura, K. & Go, N. 2003. Novel types of two-domain multi-copper oxidases: possible missing links in the evolution. *FEBS Lett* **553**, 239-244.

17. Dube, E., Shareck, F., Hurtubise, Y., Daneault, C. & Beaugregard, M. 2008. Homologous cloning, expression, and characterisation of a laccase from *Streptomyces coelicolor* and enzymatic decolourisation of an indigo dye. *Appl Microbiol Biotechnol* **79**, 597-603.
18. Majumdar, S., Lukk, T., Solbiati, J. O., Bauer, S., Nair, S. K., Cronan, J. E. & Gerlt, J. A. 2014. Roles of small laccases from *Streptomyces* in lignin degradation. *Biochemistry* **53**, 4047-4058.
19. Sherif, M., Waung, D., Korbeci, B., Mavisakalyan, V., Flick, R., Brown, G., Abou-Zaid, M., Yakunin, A. F. & Master, E. R. 2013. Biochemical studies of the multicopper oxidase (small laccase) from *Streptomyces coelicolor* using bioactive phytochemicals and site-directed mutagenesis. *Microb Biotechnol* **6**, 588-597.
20. Skalova, T., Dohnalek, J., Ostergaard, L. H., Ostergaard, P. R., Kolenko, P., Duskova, J., Stepankova, A. & Hasek, J. 2009. The structure of the small laccase from *Streptomyces coelicolor* reveals a link between laccases and nitrite reductases. *J Mol Biol* **385**, 1165-1178.
21. Solano, F., Lucas-Elio, P., Fernandez, E. & Sanchez-Amat, A. 2000. *Marinomonas mediterranea* MMB-1 transposon mutagenesis: isolation of a multipotent polyphenol oxidase mutant. *J Bacteriol* **182**, 3754-3760.
22. Hullo, M. F., Moszer, I., Danchin, A. & Martin-Verstraete, I. 2001. CotA of *Bacillus subtilis* is a copper-dependent laccase. *J Bacteriol* **183**, 5426-5430.
23. Ihssen, J., Reiss, R., Luchsinger, R., Thony-Meyer, L. & Richter, M. 2015. Biochemical properties and yields of diverse bacterial laccase-like multicopper oxidases expressed in *Escherichia coli*. *Sci Rep* **5**, 10465.
24. Lu, L., Zeng, G., Fan, C., Ren, X., Wang, C., Zhao, Q., Zhang, J., Chen, M., Chen, A. & Jiang, M. 2013. Characterization of a laccase-like multicopper oxidase from newly isolated *Streptomyces* sp. C1 in agricultural waste compost and enzymatic decolorization of azo dyes. *Biochem Eng J* **72**, 70-76.
25. Molina-Guijarro, J. M., Perez, J., Munoz-Dorado, J., Guillen, F., Moya, R., Hernandez, M. & Arias, M. E. 2009. Detoxification of azo dyes by a novel pH-versatile, salt-resistant laccase from *Streptomyces ipomoea*. *Int Microbiol* **12**, 13-21.
26. Lu, L., Zeng, G., Fan, C., Zhang, J., Chen, A., Chen, M., Jiang, M., Yuan, Y., Wu, H., Lai, M. & He, Y. 2014. Diversity of two-domain laccase-like multicopper oxidase genes in *Streptomyces* spp.: identification of genes potentially involved in extracellular activities and lignocellulose degradation during composting of agricultural waste. *Appl Environ Microbiol* **80**, 3305-3314.
27. 上田賢志. 2012. 新しいバイオマス利用法の開発に向けた放線菌群の共生的相互作用に関する研究. *IFO Res. Commun.* **26**, 101-111.

上田賢志先生のプロフィール

学歴

1990年3月 東京大学農学部農芸化学科卒業

1995年3月 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻 博士後期課程修了

職歴

1992年4月 文部省日本学術振興会特別研究員DC 1

1995年4月 日本大学農獣医学部（現生物資源科学部）・助手

1999年4月 日本大学生物資源科学部・講師

2002年4月 日本大学生物資源科学部・助教授

2013年4月 日本大学生物資源科学部・教授

受賞歴

日本放線菌学会・浜田賞（1999年6月）

農学会・日本農学進歩賞（2002年11月）

日本農芸化学会・農芸化学奨励賞（2005年3月）

日本大学生物資源科学部生命科学研究センター

〒252-0880 神奈川県藤沢市亀井野1866

電話 0466-84-3937 Fax 0466-84-3935

e-mail, ueda.kenji@nihon-u.ac.jp