

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	バクテリオナノファイバー蛋白質の機能を基盤とする界面微生物プロセスの構築
研究機関・ 部局・職名	名古屋大学・大学院工学研究科・教授
氏名	堀 克敏

1. 当該年度の研究目的

1. バクテリオナノファイバーの新規微生物固定化技術への応用

高付着性バクテリア *Acinetobacter* sp. Tol 5 のもつ接着性ナノファイバーAtaA の機能部位を解析する。また、AtaA のフォールディングに働くことが示唆された OmlT の機能を解析する。*ataA* 遺伝子を単独または *omlT* 遺伝子と同時に有用グラム陰性細菌に導入し、また AtaA 遺伝子の発現量の増大とナノファイバー蛋白質の安定的生産を図ることで、遺伝子導入微生物の付着性を向上させる。各種材質に対する AtaA ナノファイバーの接着性や表面との物理化学的相互作用などを評価し、付着しやすい/しにくい表面についての知見を得る。

2. バクテリオナノファイバーの構造解析とナノバイオテクノロジーへの展開

AtaA 蛋白質の構造解析のため、組換え蛋白質や天然 AtaA ナノファイバーの分離精製を試みる。バクテリオナノファイバーを AFM で解析する。また、機能性/標識ペプチドを AtaA ナノファイバー上に提示する。

3. AtaA 以外のナノファイバーの分子解析と機能解析

タイプ1ピリオおよび Fil ピリの遺伝子発現調節機構と機能の解明を目指し、分子生物学的解析を進める。

2. 研究の実施状況

1. バクテリオナノファイバーの新規微生物固定化技術への応用

部分欠損させた *ataA* 遺伝子を *ataA* 欠損株に導入して付着性の回復を調べている。OmlT 蛋白質は AtaA と同じ場所に局在し、AtaA 非存在下では局在が異なることがわかった。現在、免疫沈降法等により両者の直接的相互作用の有無を調べている。また、*ataA* 遺伝子により大腸菌と電流生産菌に付着性を付与することに成功した。さらに、*omlT* 遺伝子と同時導入し、付着性を一層向上させた。現在、発現量の増大や安定的発現などにより、固定化に有効なレベルの付着性付与を目指している。*ataA* を介する Tol 5 の付着特性を調べ、休止細胞状態でも、疎水性のプラスチックから親水性のガラスや金属まで種々の材料表面に、短時間で接着でき、微生物の固定化に適していることを示した。

2. バクテリオナノファイバーの構造解析とナノバイオテクノロジーへの展開

AtaA ファイバーの複数個所に機能性/標識ペプチドを提示させることができた。また、AFM を導入し、大気中でのナノファイバーの形態観察や水中でのナノファイバーと表面との相互作用の計測を開始した。組換え蛋白質や天然 AtaA ナノファイバーの分離精製にも取り組んでいる。

3. AtaA 以外のナノファイバーの分子解析と機能解析

Fil ピリは AtaA による細胞付着を抑制する働きがあることがわかった。タイプ1ピリオペロンの発現調節機構を明らかにするために、複数の調節遺伝子のノックアウト株を得た。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計 2 件	(掲載済み一査読有り) 計 0 件 (掲載済み一査読無し) 計 1 件 (1) 堀 克敏; バクテリオナノファイバーの細胞接着機能と応用; <i>高分子</i> 60, (2011), 10, 747-748 (未掲載) 計 1 件 (1) M. Ishikawa, K. Shigemori, A. Suzuki, and K. Hori; Evaluation of Adhesiveness of <i>Acinetobacter</i> sp. Tol 5 to abiotic surfaces, <i>J. Biosci. Bioeng.</i> (2012), Volume 113 Issue 6, 719-725, doi:10.1016 / j.jbiosc.2012.01.011
会議発表 計9件	専門家向け 計7件 (1) (招待講演) K. Hori; Bacterionanofibers applicable to a new method for surface immobilization of microbial cells, 14 th Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress, Singapore, 2012. 2.21-24. (2) (自ら企画) K. Hori; A unique nanofibrous adhesion confers nonspecific, high adhesiveness to bacteria, <i>Interfacial Microbial Engineering, IUMS 2011</i> Sapporo, Japan, 2011.9.9 (3) (招待講演) 堀 克敏; 日中バイオ水素研究の日本側研究概要、Asia High Technology Network for BioHydrogen Workshop in Osaka 2012、大阪(大阪大学)、2012.2.6-7 (4) (招待講演) 堀 克敏; バクテリオナノファイバー蛋白質と界面微生物工学への展開、第 5 回バイオ関連化学シンポジウム、筑波、2011.9.12-13 (5) (招待講演) 堀 克敏; 界面微生物工学によるグリーンイノベーションを目指して、界面動電現象研究会サマースクールー微生物とコロイドのソフト界面ー、界面動電現象研究会、筑波、2011.8.27 (6) (招待講演) D. Okamura, Y. Mori, T. Hashimoto, K. Hori; Microbial Degradation of Biofoulants in a Membrane Bioreactor for Water Purification, <i>Defence Science & Research Conference (DSR 2011)</i> , SINGAPORE, 2011.8. 3-5 (7) (招待講演) K. Hori; Bacterial Cell Adhesion through Bacterionanofibers, 25 th Bacterial Adherence and Biofilm, Tokyo, 2011.7. 8. 一般向け 計2件 (1) (招待講演) 堀 克敏; バイオフィウリングの原因解明と抑制技術、膜機構春季講演会、神戸、2012.3.8. (2) (自ら企画) 堀 克敏; 水処理の国際産学連携の拠点形成に向けて、名古屋、2011. 7. 21.
図 書 計 1 件	K. Hori and H. Unno; Bioreactions and Bioreactor Operation Integrated production and separation, in Murray Moo-Young (ed.), " <i>Comprehensive Biotechnology</i> ", Second Edition, volume 2, Elsevier, (2011) , pp.579-590, ISBN: 9780444533524
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://www.nubio.nagoya-u.ac.jp/nubio2/
国民との科 学・技術対話 の実施状況	(1) 身近な微生物の驚くべき能力とその利用を目指す微生物研究の最前線, さかえサイエンストーク, 名古屋, 2011.10.18-20. ジュンク堂書店ロフト名古屋店、一般市民、参加者数約20名、内容:、身近な存在である微生物について、我々の生活との関わりと共に紹介した。次いで、沸騰水中でも生きられる、放射線を浴びても平気である、電流を生産するなど微生物の驚くべき能力について話した。そして微生物を利用する技術や研究の最前線について、本研究課題の内容も織り交ぜながら説明した。 (2) バクテリオナノファイバー蛋白質の機能を基盤とする界面微生物プロセスの構築, テクノ・フェア 2011 名大もの作り最前線ー創造から技術へー, 名古屋大学豊田講堂, 2011.9.2, 対象:一般市民、企業人、約1,100名、本研究課題について講演とポスターで発表した。
新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件	該当なし
その他	該当なし

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	129,000,000	65,720,000	0	63,280,000	0
間接経費	38,700,000	19,716,000	0	18,984,000	0
合計	167,700,000	85,436,000	0	82,264,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	65,580,000	0	0	65,580,000	51,506,099	14,073,901	0
間接経費	19,674,000	0	0	19,674,000	14,467,922	5,206,078	0
合計	85,254,000	0	0	85,254,000	65,974,021	19,279,979	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	42,290,513	実験装置、実験試薬、消耗品等
旅費	824,020	研究成果発表旅費(中国、シンガポール、国内)等
謝金・人件費等	8,136,399	プロジェクト研究員人件費
その他	255,167	学会参加費、年会費等
直接経費計	51,506,099	
間接経費計	14,467,922	
合計	65,974,021	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
原子間力顕微鏡	アサイラムテクノロジー製 MFP-3D-BIO-NH型	1	20,160,000	20,160,000	2011/12/20	名古屋大学
フローサイトメ ーター	米国BD社製 FACSCanto II 2	1	14,280,000	14,280,000	2012/1/31	名古屋大学
マルチラベルリー ダー	米国バーキネンルマー社 製 ARVO X3システム 2030-0030J	1	2,992,500	2,992,500	2012/1/25	名古屋大学