

二国間交流事業 共同研究報告書

平成23年 4 月 14 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 (独)産業技術総合研究所・健康工学研究部門

職・氏名 (ふりがな) 研究員・川崎 かわさき 隆史 たかし

1. 事業名 相手国 (インド) との共同研究 振興会対応機関 (DST)
2. 研究課題名 印日高温環境からの環境ゲノミクス手法による新規糖代謝関連遺伝子の単離と応用
3. 全採用期間

平成21年6月1日 ~ 平成23年3月31日 (1年 10ヶ月)

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 2,000 千円

初年度経費 1,000 千円、 2年度経費 1,000 千円、 3年度経費 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
かわさき たかし 川崎 隆史	産総研健康工学研究部門、研究員	研究代表者、新規遺伝子の分子生物学的解析
ふじもり かずひろ 藤森 一浩	産総研健康工学研究部門、研究員	新規遺伝子の分子生物学的解析
みやざき けんたろう 宮崎 健太郎	産総研健康工学研究部門、研究グループ長	新規遺伝子の環境ゲノミクス手法による探索
おおしま としひさ 大島 敏久	九州大学大学院農学研究院、教授	新規遺伝子産物の酵素学的解析
かわらばやし ゆたか 河原林 裕	NEDO、主任研究員	新規遺伝子の探索及び解析

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 University of Delhi, South Campus, Professor, Tulasi Satyanarayana

(3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○ Tulasi Satyanarayana	University of Delhi, South Campus, Professor	研究代表者、新規遺伝子単離のインド側統括
Archana Sharma	University of Delhi, South Campus, Research Fellow	高温環境からの新規微生物の培養
Digvijay Verma	University of Delhi, South Campus, Research Fellow	高温環境からの新規遺伝子の単離と解析

6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

（目的）本二国間共同研究では、インド及び我が国における高温環境から、培養による微生物の単離という従来手法によらずに、環境ゲノミクス手法による新規糖代謝関連遺伝子の探索・単離とその応用を目的としている。特に近年の生物資源の有効利用や二酸化炭素排出抑制に効果のあるバイオマスの有効利用に貢献できる耐熱性糖鎖分解酵素・遺伝子の単離・応用は時代にも求められている。そこで、本共同研究では、環境ゲノミクス手法を用いる事により、従来の手法では単離出来なかった糖鎖分解を担う新規酵素を高温環境から見出す事を目的とした。

（内容）そこで本共同研究では、微生物を環境から分離培養することなく、直接環境中の DNA を精製し、その DNA から目的の遺伝子を探索する環境ゲノミクス手法を用いて新規酵素の単離を試みた。初年度にインドから来日した Verma 氏は我が国の高温環境から採取した土壌を用いて、直接 DNA を精製した。その DNA を断片化し、大腸菌用のベクターに組み込んだライブラリーを構築した。このライブラリーを用いて、今後のバイオマス利用に重要である、植物細胞壁成分であるキシラン（ β -1,4 キシラン）の分解を担うキシラナーゼ（xylanase）活性を有する有用なクローンの選択に取り組んだ。RBB-xylan（4-O-methyl-D-glucurono-D-xylan-remazol brilliant blue R）を含む培地上にライブラリー・プラスミドを有する大腸菌を植菌して、D-キシロースの β -1,4 結合を切断した場合には色が変わると言うスクリーニングを行い、目的とする活性を有するクローンを得る事ができた。その後、インド・デリー大学南キャンパスにおける解析及び翌年来日した Verma 氏が九州大学で行った解析により、そのクローンの塩基配列が決定され、遺伝子領域の発現プラスミドへの導入、大腸菌での発現、大腸菌での発現産物を用いた機能の詳細な解析等を行ってきた。その間、インド側の研究代表者である Tulasei Satyanarayana 教授は計 2 度の来日により、本研究に関連する有用な情報交換を行った。また、日本側研究者の河原林も各年度に 1 回インドを訪問し、本酵素やその他の有用酵素に関する重要な意見交換を行なった。

（成果）現在までのところ、耐熱性を有し、至適 pH がアルカリ性である新規有用酵素・遺伝子クローンを得る事が出来た。キシランを含む多糖類は一般的にアルカリ性において水溶性が増すので、アルカリ性条件下で高い安定性及び活性並びに高い熱安定性を示す本酵素は産業的な有用性を有している。今後の研究の進展によって、本酵素を植物細胞壁処理等に用いる事が出来るようになれば、植物細胞壁に含まれるキシランを有効に分解する事が出来、バイオマスの有効利用につながる事が予想される。また、本共同研究の中でインド及び日本の若手研究者が本研究に取り組むことで、良い経験をつむ事が出来た。