

**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22年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	放線菌の潜在能力の発掘・活用による有用物質の微生物生産に向けた基盤研究
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
氏名	大西 康夫

1. 当該年度の研究目的

研究者はこれまで医薬品や高分子原料などの有用物質の微生物生産に関わる基礎・応用研究を行ってきたが、この研究が次世代微生物利用技術の大きな柱になると確信し、今後もこの研究を強力に推進する。本研究課題では、医薬品や高分子原料などの有用物質の微生物生産におけるグリーンイノベーションを創出するため、抗生物質をはじめとした多種多様な生理活性物質の代表的な生産菌であり物質生産に応用できる有用酵素の宝庫である放線菌に標的を絞って研究を行う。具体的には、化学プロセスのバイオ化や新規化合物の微生物創製に関する革新的シーズの創出に資することを目的に、「ユニークな反応を触媒できる生合成酵素の取得と物質生産への応用」と「放線菌の物質生産能を活用するための遺伝子発現制御システムの解明」を2本柱として、放線菌の潜在能力を発掘・活用するための基盤研究を行う。本研究においては、これまで行ってきた研究を継続している部分も多くあり、さまざまな個別研究テーマにおいて、進行ステージが異なるものもある。平成22年度の2ヶ月間においては、各研究のステージにあわせてしっかりと研究を進めるとともに、研究期間内(平成25年度末まで)の目標を明確にすることを念頭においた。

2. 研究の実施状況

A. ユニークな反応を触媒できる生合成酵素の取得と物質生産への応用

A-1. 新規構造を起点としたアプローチ

- ・ 当初計画の6種の放線菌二次代謝産物のうち、3種について生合成遺伝子クラスターを特定し、一部の生合成酵素の機能を解析。

A-2. ゲノム配列を起点としたアプローチ

- ・ 放線菌 *S. griseus* がもつ27種のP-450モノオキシゲナーゼについて、組換え大腸菌による基質ライブラリーの変換実験を実施。
- ・ 酵素活性が検出できた8種の放線菌セスキテルペン環化酵素ホモログに関する解析を終了。
- ・ 2種の放線菌 *A. missouriensis* および *S. coelicolor* A3(2)のII型PKSを含むポリケチド生合成遺伝子クラスターを解析。

B. 放線菌の物質生産能を活用するための遺伝子発現制御システムの解明

<p>B-1. <i>S. griseus</i>の遺伝子発現制御</p> <ul style="list-style-type: none"> ・形態分化と二次代謝の鍵制御因子 AdpA による遺伝子制御ネットワークの明確化のため、網羅的 DNA 結合部位解析で得られた結果を精査。 ・転写と翻訳の両ステップが関わる、AdpA-<i>bldA</i> フィードバック制御機構を解明。 ・黄色色素グリキサゾン合成の遺伝子発現制御、主要シグマ因子を制御する新規 ECF シグマ因子等、個別の遺伝子発現制御系を解析。 ・網羅的な転写開始点およびオペロン解析のための条件検討を完了。 <p>B-2. <i>A. missouriensis</i>の遺伝子発現制御</p> <ul style="list-style-type: none"> ・べん毛や走化性に関係する遺伝子破壊株の作製とその表現型の解析。 ・蛍光タンパク質との融合タンパク質を用いてケモレセプターの細胞内局在を解析。 ・べん毛遺伝子クラスター中の制御遺伝子の破壊株等に関して、孢子嚢を透過型電子顕微鏡観察。 ・運動孢子特異的タンパク質や出芽にともなって生産されるタンパク質遺伝子の転写解析。 ・運動孢子の運動に必要な孢子内貯蔵エネルギー源化合物の同定のための予備実験を完了。 	
---	--

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 0 件
計 0 件	(掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件
会議発表	専門家向け 計 16 件
計 16 件	<p>○日本農芸化学会 2011 大会シンポジウム「微生物酵素・代謝の最先端研究を担うサイエンティストからの視点:分子メカニズムから進化まで」,京都,2011.3/25~3/28,日本農芸化学会 ・「はじめて明らかになったニトロソ化酵素: 合成遺伝子群の進化についての考察」,大西康夫</p> <p>○日本農芸化学会 2011 大会一般講演(以下 13 題)京都,2011.3/25~3/28,日本農芸化学会 ・「放線菌 <i>Streptomyces griseus</i> においてグリキサゾン生産に関わる新規な抗転写活性化因子 GriU の機能解析」,中村一成,堀之内末治,大西康夫 ・「放線菌の主要シグマ因子を制御する ECF シグマ因子」,大谷啓志,肥後明佳,堀之内末治,大西康夫 ・「放線菌 <i>Streptomyces griseus</i> におけるリジンアセチル化タンパク質の同定とその生理的機能の研究」,石垣祐二,赤沼元気,古園(松田)さおり,吉田稔,堀之内末治,大西康夫 ・「転写因子 AdpA と tRNA <i>bldA</i> から構成されるフィードバックループによる <i>Streptomyces</i> 属放線菌の遺伝子発現制御」,肥後明佳,堀之内末治,大西康夫 ・「稀少放線菌 <i>Actinoplanes missouriensis</i> の運動性孢子の走化性ケモレセプターに関する解析」,金昭ヨシ,藤田信之,早川正幸,堀之内末治,大西康夫 ・「稀少放線菌 <i>Actinoplanes missouriensis</i> の運動性孢子のメタボローム解析」,乙供かな依,斎藤菜摘,曾我朋義,大西康夫 ・「稀少放線菌 <i>Actinoplanes missouriensis</i> におけるオレンジ色素の構造解析」,松井美里,泉川美穂,金昭ヨシ,高木基樹,新家一男,大西康夫 (2011) ・「ステロイド化合物の D 環 16α 位を立体・位置特異的に水酸化する放線菌由来 P450 の発見」,牧野拓也,音松俊彦,三沢典彦,大西康夫 ・「フェロベルディン合成経路の解明」,野口秋雄,北村武史,尾仲宏康,供田 洋,堀之内末治,大西康夫 ・「放線菌 <i>Streptomyces citricolor</i> 由来の新規セスキテルペン環化酵素の機能解析」,仲野千秋,工藤史貴,江口正,大西康夫</p>

様式19 別紙1

	<p>・「放線菌 <i>Streptomyces clavuligerus</i>由来の新規モノテルペン環化酵素の機能解析」,金孝キョン,仲野千秋,大西康夫</p> <p>・「actinorhodin生合成における生成物解離機構の解明」,淡川孝義,アデリンムリアンディ,田口貴章,市瀬浩志,大西康夫</p> <p>・「稀少放線菌 <i>Actinoplanes missouriensis</i>の新規II型ポリケタイド合成酵素遺伝子クラスターの機能解析」,横田康介,藤田信之,早川正幸,大西康夫</p> <p>○ 第5回日本ゲノム微生物学会年会,仙台,2011.3/14~3/16,日本ゲノム微生物学会</p> <p>・「放線菌 <i>Streptomyces griseus</i>の気中菌糸形成に必須なWblAの解析」,肥後明佳,平野節,堀之内末治,大西康夫</p> <p>○ 平成22年度発酵と代謝研究会講演会「日本バイオ・ものづくり研究の再興に向けて」-アカデミアとインダストリー-新しい連携のスタートへ-,東京,201.3.10,財団法人バイオインダストリー協会</p> <p>・「微生物による「ものづくり」に利用できる生合成酵素の発掘」,大西康夫</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>なし</p>
<p>国民との科学・技術対話 の実施状況</p>	<p>来年度から実施の予定</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

特になし。

実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

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
直接経費	126,000,000	0	65,430,000	60,570,000
間接経費	37,800,000	0	19,629,000	18,171,000
合計	163,800,000	0	85,059,000	78,741,000

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
直接経費	0	65,430,000	0	65,430,000	3,357,261	62,072,739
間接経費	0	19,629,000	0	19,629,000	0	19,629,000
合計	0	85,059,000	0	85,059,000	3,357,261	81,701,739

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	3,286,964	実験試薬、ガラス器具等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	70,297	スポット解析(DNAシーケンス)
直接経費計	3,357,261	
間接経費計	0	
合計	3,357,261	

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
				0		
				0		
				0		