



**東北大学大学院生命科学研究科
微生物進化機能開発
寄附講座開設記念シンポジウム**

講演要旨集

平成 28 年 11 月 24 日 (木)

14:30~17:30

**東北大学片平キャンパス
生命科学研究科プロジェクト研究棟 1 階講義室**

当講座は公益財団法人発酵研究所の助成により設立された寄附講座です

東北大学大学院生命科学研究科
「微生物進化機能開発」寄附講座開設記念シンポジウム

平成 28 年 11 月 24 日 (木)

東北大学片平キャンパス・生命科学研究科プロジェクト研究棟 1 階講義室

寄附講座開設記念式典 (14:00 ~ 14:30)

司会 東 谷 篤 志 (生命科学研究科長)

挨拶	里 見 進	(東北大学総長)
感謝状贈呈	里 見 進	(東北大学総長)
来賓挨拶	中 濱 一 雄	(公益財団法人発酵研究所常務理事)

講演会 (14:30~ 17:30)

座長 中 山 亨 (東北大学・大学院工学研究科・教授)

14:30~15:10 人為起源物質分解細菌の進化と微生物機能開発

永 田 裕 二

(東北大学・大学院生命科学研究科・微生物進化機能開発寄附講座・教授)

15:10~15:50 微生物統合データベース「MicrobeDB.jp」

黒 川 顕

(国立遺伝学研究所・生命情報研究センター・ゲノム進化研究室・教授)

15:50~16:05 <休 憩>

座長 津 田 雅 孝 (東北大学・大学院生命科学研究科・教授)

16:05~16:45 わが国を代表する産業微生物「麹菌」の有用機能開発

五 味 勝 也

(東北大学・大学院農学研究科・生物産業情報科学講座・教授)

16:45~17:25 発酵を通して見た新しい微生物の姿

別 府 輝 彦 (東京大学名誉教授)

17:25~17:30 <閉会の挨拶>

東 谷 篤 志 (生命科学研究科長)

交流会 (18:00~20:00) レストラン萩

挨拶 (乾杯) 矢 島 敬 雅 (東北大学理事・産学連携担当)

閉会の挨拶 永 田 裕 二 (東北大学・大学院生命科学研究科)

講演要旨

人為起源物質分解細菌の進化と微生物機能開発

永田裕二

東北大学大学院生命科学研究科・微生物進化機能開発寄附講座・教授

人類が化学合成し、大量に環境中に放出した非生体化学物質をも唯一の炭素源・エネルギー源として利用できる微生物が存在する。このような微生物の能力は、環境浄化への応用のみならず、生物の環境適応・機能進化機構の解明の観点からも興味深い研究対象である。

代表的な人工合成有機塩素系殺虫剤の γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH: 別名 BHC, lindane) は、環境中での残留性が高い「高度に」難分解性の環境汚染物質であり、persistent organic pollutants (POPs) と総称される環境汚染物質のひとつとして適切な処理のために国際的な取り組みが求められている。*Sphingobium japonicum* UT26 株は、東京大学農学部の γ -HCH 連用試験圃場から単離された γ -HCH 分解細菌である。我々は本株の γ -HCH 分解代謝関連遺伝子群を単離・同定し、微生物による γ -HCH 分解代謝系の全貌を世界に先駆けて解明した。本株の分解代謝経路は効率の悪い「不完全な」代謝経路であり、分解酵素遺伝子群も「寄せ集め」であることから、「歴史の浅い」分解代謝系であると推測された。さらに、本株および地理的に異なる国内外の HCH 類汚染地から単離された他の複数 γ -HCH 分解細菌株とのゲノム比較等を通じて、(i) γ -HCH 分解細菌は、特有の ABC トランスポーターホモログなどの基本的細胞機能を有する細菌株が、 γ -HCH 分解に必要な「特異的酵素遺伝子群」を外部から獲得することで世界各地で「独立に」創出されたこと、(ii) 外部からの遺伝子の獲得やそれに伴うゲノム再編成に、特有のプラスミドや挿入配列などの可動性遺伝因子が重要な役割を果たしていること、が強く示唆された。

脱ハロゲン酵素は、多くの有害物質が含まれる有機ハロゲン系化合物の微生物分解における鍵酵素であり、応用的価値も高い。そこで、 γ -HCH 分解の初期段階に関与する 2 種の脱ハロゲン酵素 LinA と LinB およびその関連酵素のタンパク質工学的研究を実施した。その結果、(i) γ -HCH の初発分解反応を触媒する新規の脱塩化水素酵素 LinA の反応機構の解明、(ii) 基質特異性の広いハロアルカンデハロゲナーゼ LinB およびその関連酵素の反応機構の詳細と構造-機能相関の解明、(iii) 基質・産物が入り出す酵素のトンネル部分の改変で酵素機能を変化・向上させる「トンネル工学」の有効性の提示、(iv) LinB の β -HCH 分解能に関する機能進化様式の推定、などの成果を得た。一方、細菌のゲノム・メタゲノム情報から、LinB と同類のハロアルカンデハロゲナーゼ遺伝

子ホモログが、当初考えられていたより多く環境中に存在することが明らかになった。これらは実際に様々な基質特異性を有するハロアルカンデハロゲナーゼをコードしており、たとえば、根粒菌が有する DbjA は新規の反応特性を示した。

以上の研究を通じて、 γ -HCH 分解細菌がどのような酵素（遺伝子）群を使って完全な人工化合物である γ -HCH を代謝しているのか、代謝酵素以外に必要な因子は何か、 γ -HCH 分解細菌のゲノム構造はどのようなものなのか、などの基礎的知見を得、それらを元に γ -HCH 分解細菌が環境中でどのように生まれ、進化してきたかを「ある程度」推測することが可能になった。また、酵素機能を理論に基づいて改良することが「ある程度」可能であることを示した。しかし、(i) そもそも *linA* や *linB* などの γ -HCH 分解に必要な「特異的酵素遺伝子群」が環境中で如何にして創出されたのか（特に、膨大なゲノム・メタゲノム情報がデータベース上に溢れる現在でも *linA* の進化的起源が推測できるような遺伝子は見つかっていない）、(ii) 「環境遺伝子プール（細菌が利用できる遺伝子の総体）」の実体は何なのか、また、分解細菌の祖先がそこからどのような機構で必要な遺伝子を獲得したのか、(iii) *LinA* や *LinB* は反応特性の異なる多くの variants が存在し、環境中で急速な進化を続けていると推測されるが、それらはどのような原理・機構で機能進化するのか、という「核心」部分の解明や実験的検証はまだこれからである。atrazine や linuron など、 γ -HCH 以外の「高度に」難分解性物質の微生物代謝系でも同様の知見と謎が提示されていることは、人為起源物質分解細菌が未解明の普遍的な生命原理の解明に迫る可能性を秘めた研究対象であることを強く支持する。今後、これまでに蓄積した情報と材料を利用して、こうした「核心」に迫り、生命の起源や進化に関する普遍的な知見を得ると共に、未開拓の細菌機能の開発手法の確立や実際の環境浄化への応用に繋げたい、と考えている。

プロフィール

【経歴】

- 1989年 東京大学・農学部・農芸化学科卒業
- 1991年 東京大学・大学院農学生命科学研究科
・応用生命工学専攻・修士課程修了
- 1991年 東京大学・農学部・農芸化学科・助手
- 1995年 博士（農学）（東京大学）学位取得
- 1996年 東京大学・大学院農学生命科学研究科・助手
- 2000年 東北大学・遺伝生態研究センター・助教授
- 2001年 東北大学・大学院生命科学研究科・助教授
- 2008年 東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
- 2016年 東北大学・大学院生命科学研究科・微生物進化機能開発寄附講座・教授



【受賞等】

- 2000年 日本農芸化学会・農芸化学奨励賞
- 2003年 (財)インテリジェント・コスモス学術振興財団
・インテリジェント・コスモス奨励賞
- 2004年 東北大学・大学院生命科学研究科内研究奨励賞
- 2015年 Siemens Innovation Prize 2014 in Czech Republic

微生物統合データベース「MicrobeDB.jp」

黒川 顕

国立遺伝学研究所生命情報研究センター・ゲノム進化研究室・教授

ライフサイエンス研究において、知識の集積体であるデータベース（DB）は、知識の参照のみにとどまるものではなく、新たな研究分野を切り拓く上で欠く事のできない極めて重要な研究基盤である。ライフサイエンス研究の中でも、微生物研究は歴史も古く、これまで蓄積されたデータや知識は膨大かつ多岐にわたっている。さらに、昨今のゲノム科学の発展に伴い、ゲノムやメタゲノムなど圧倒的な量のデータが産出されており、これらを横断的にかつ簡便に利用できれば、新たな仮説や研究分野の創出がより容易になると期待される。

我々は JST NBDC 第 1 期統合化推進プログラムにて、国内外に散在する細菌の各種オミックス情報を広く収集し、遺伝子、ゲノム、環境の 3 つの軸に沿って遺伝子機能、分類学的情報、菌株保存情報、表現型情報などの知識を整理し、ゲノム情報を核としてセマンティックウェブ技術により統合した統合 DB「MicrobeDB.jp」を開発した。第 2 期統合化推進プログラムでは、加速度的に産生される微生物のゲノム・メタゲノムデータに対応すべく MicrobeDB.jp version 2 を開発している。この MicrobeDB.jp ver.2 では、約 100 億トリプルで構成される Full RDF な DB となり、6 種類のオントロジー&ボキャブラリおよび 180 種類の統合 DB 解析アプリケーション群（Stanza）を開発・実装した世界に類を見ない DB となっている。環境データを主軸の一つとして DB を統合した事により、微生物研究者のみならず、臨床医学、地球惑星科学など異分野の研究者からも利用されつつある。さらに、産業界においても、製薬、農業などバイオ産業を筆頭に、住宅、化学、分析、商社などの多様な業種からも関心を持たれており、様々な発展的要望も寄せられるようになっている。

現在、MicrobeDB.jp を細菌のみならず真菌類、藻類を対象として拡張するとともに、持続可能なシステムの構築、Stanza の開発、さらにはユーザビリティの向上を徹底する事で、単語の検索や単なる統計量の羅列ではなく、大規模データからの新規知識発見を容易に実現する事が可能な DB システムの構築を目指している。MicrobeDB.jp を利用することで、分野特異的のみならず分野横断的な新興研究に資する新たな知見を抽出することが容易となり、ゲノム情報を核とした我国の微生物研究の発展に寄与できると考える。

プロフィール

【経歴】

- 1993年 東北大学・理学部・地学科卒業
- 1995年 東北大学・大学院理学研究科地学専攻
・博士前期課程修了
- 1998年 大阪大学・大学院薬学研究科応用薬学専攻
・博士後期課程修了
- 1998年 博士（薬学）（大阪大学）学位取得
- 1998年 大阪大学・微生物病研究所・研究員
- 2001年 大阪大学・微生物病研究所・助手
(同遺伝情報実験センター・助手)
- 2004年 奈良先端科学技術大学院大学・情報科学研究科・助教授
- 2008年 東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授
- 2013年 東京工業大学・地球生命研究所・教授、副所長
- 2016年 国立遺伝学研究所・生命情報研究センター・教授

【受賞等】

- 2008年 日本ゲノム微生物学会・研究奨励賞
- 2010年 IBM SUR Awards
- 2015年 手島精一記念研究賞



わが国を代表する産業微生物「麹菌」の有用機能開発 五味勝也

東北大学大学院農学研究科・生物産業情報科学講座・教授

麹菌はわが国で清酒、醤油、味噌などの醸造食品製造に1000年以上の昔から利用されてきたことから、わが国を代表する産業微生物と言って過言ではない。そのため、麹菌の生産する多様な酵素などを中心にした研究が古くから多くの研究者によって進められてきたものの、有性世代がないことや多核細胞ゆえの古典遺伝学的解析の困難さから、分子レベルにおける解析は同じ醸造用の真核微生物である酵母に比べてきわめて遅れていた。しかし、演者らにより世界に先駆けて麹菌における遺伝子導入法と宿主ベクター系が確立されるとともに、醸造産業上有用な酵素遺伝子（ α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ、酸性プロテアーゼなど）のクローニングと構造解析が行われ、麹菌における分子生物学的研究の基盤が形成された。麹菌の遺伝子工学技術の確立はわが国の糸状菌の分子レベルにおける研究の端緒を開き、多くの大学や企業の研究者が麹菌を中心に各種糸状菌の分子生物学研究に参入することにつながり、わが国の糸状菌研究が大きく発展した。本講演では、わが国の代表的産業微生物である麹菌の有用機能の分子レベルでの解析とその応用に関して、演者らの研究成果を中心に紹介したい。

1. 麹菌のデンプン分解酵素遺伝子発現制御の分子機構の解明

麹菌の生産する産業上最も重要な酵素の一つがデンプン分解酵素（ α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ）である。これらの遺伝子の発現は細胞外のデンプンやマルトースなどによって誘導されるが、その発現制御機構解明を目的として、アミラーゼ遺伝子のプロモーター解析から発現制御に必要なシスエレメントを見出すとともに、この配列に結合する転写因子AmyRを発見した。また、マルトース輸送体とマルターゼをコードする遺伝子（*malP*、*malT*）およびこれらの遺伝子発現誘導に関わる転写因子遺伝子*malR*からなるマルトース遺伝子クラスターを見出し、このクラスターがアミラーゼ遺伝子の転写誘導に必須であることを明らかにした。さらに、マルトース存在下で発現したマルトース輸送体MalPは、培地中のグルコース濃度の上昇に伴い、エンドサイトーシスにより不活性化されることも明らかになった。これにより、マルトースの取込みのアミラーゼ生産における重要性、グルコースによるマルトース取込みの制御機構が示された。また、グルコースによるアミラーゼ生産

抑制に関わる転写因子CreAならびにCreAの制御因子と考えられている脱ユビキチン化酵素CreBとの二重破壊によりアミラーゼ生産が飛躍的に向上することが見出された。一方、清酒醸造に必須のグルコアミラーゼは液体培養では発現せず、麴のような固体培養の条件でのみ発現するが、この固体培養特異的な遺伝子発現制御を司る転写因子としてFibCが発見された。FibCの遺伝子破壊株の解析から、FibCはグルコアミラーゼと同様に固体培養で高生産される酸性プロテアーゼや中性プロテアーゼなどの清酒や醤油醸造で重要なタンパク質分解酵素の遺伝子発現制御にも必須な転写因子であることが明らかになってきた。

2. 麴菌を宿主にした有用物質生産

麴菌はアミラーゼなどを大量に菌体外に分泌生産することから、異種有用タンパク質の分泌生産宿主として期待されている。演者らは転写因子AmyRが結合するシスエレメントであるregion IIIを複数個タンデムに連結した遺伝子高発現プロモーターを開発し、これらの改変型プロモーターを利用してヒトリゾチームや子ウシキモシンなどの高発現・高分泌生産を可能とした。また、麴菌自身が高分泌するグルコアミラーゼのようなタンパク質をキャリアとして融合させること、また麴菌のコドン使用頻度に最適化することにより、麴菌に導入した異種遺伝子のmRNAが安定化し、それに伴って異種タンパク質の生産性が向上することが明らかとなり、異種タンパク質の効率的生産にコドン最適化が有効であることが示された。

一方、麴菌ゲノムには二次代謝化合物の生合成クラスターが非常に多く存在するものの、ほとんどこれらの化合物は生産されていないことから、二次代謝化合物生産のためのクリーンホストとして利用可能である。複数の選択マーカーを有する麴菌宿主株と高発現用プロモーターを利用して、糸状菌由来の二次代謝化合物の生合成酵素遺伝子を多数導入・高発現させることにより、多くの二次代謝化合物の生産が可能になってきた。さらに、演者らは最近、Cre-*loxP*を利用した選択マーカーリサイクリングによる多重遺伝子破壊・導入システムを開発し、モデル化合物としてコウジ酸の高生産を達成した。本システムは糸状菌の二次代謝化合物の生合成マシナリー研究に有効に利用できることから、わが国の天然物化学領域の進展にも貢献することが期待される。

プロフィール

【経 歴】

- 1976年 東京大学・農学部・農芸化学科卒業
- 1978年 東京大学・大学院農学系研究科
・農芸化学専攻修士課程修了
- 1978年 東京国税局・間税部・鑑定官室・大蔵技官
(国税庁醸造試験所併任)
- 1979年 関東信越国税局・間税部・鑑定官室・大蔵技官
- 1982年 国税庁醸造試験所・研究員
- 1991年 博士(農学)(東京大学)学位取得
- 1992年 科学技術庁中期在外派遣研究員(英国・シェフィールド大学)
- 1993年 生物系特定産業技術研究推進機構・新技術開発部・融資課長
- 1995年 国税庁醸造研究所・主任研究員
- 1997年 広島大学・大学院工学研究科・助教授(併任)
- 1998年 東北大学・大学院農学研究科・教授



【受賞等】

- 1987年 (財)日本醸造協会・伊藤保平賞
- 2016年 (一財)バイオインダストリー協会・バイオインダストリー協会賞

発酵を通して見た新しい微生物の姿

別府輝彦

東京大学名誉教授

20世紀が終わる頃から、われわれが見る微生物の姿は大きく変わり始めた。農芸化学の中の発酵学という、わが国独特の枠組みの中で発展してきた微生物応用の学問がそれとどう関わり、何を貢献したかについて、1956年に始まる古い個人的経験にもとづく感想を、以下の項目に従って述べる。

1) 60年一瞬

微生物スクリーニング、遺伝子組換え、ゲノム微生物学という、それぞれ時代を画した流れの中で、改めて「応用」と「基礎」の往復が必要と感じた。

2) 探索と設計

特に、1956年のグルタミン酸発酵の発見と1973年に登場した遺伝子組換え技術は、微生物の多様性にもとづく未知の機能の探索と、既に得られた知識にもとづく生物機能の設計という、二つの対照的な戦略の相補的な意義を教えてくれた。チーズ製造に使われる微生物起源の凝乳酵素の探索から、遺伝子組換えによるウシ・キモシン生産にいたる開発研究が、最近のラクダ・キモシンの登場によって新しい局面を迎えている事例について、この問題を考えて見たい。

3) 微生物の二次代謝の多面性

ヒストン脱アセチル化酵素を阻害するトリコスタチン、核膜輸送を阻害するレプトマイシンの発見を通して、微生物由来活性物質の「独創性」を学んだ。また、ストマイ生産株の奇妙な不安定性から再発見したA-ファクターは、微生物における化学信号の一つの典型となった。だが、かつて血液凝固阻害剤として発見されたサーファクチンが、枯草菌の孢子-バイオフィルム形成を制御する内在性因子だと判った最近の例等に、二次代謝産物の役割の再考を迫られた。

4) 微生物という生き方

好熱性のトリプトファナーゼ生産菌のスクリーニングで出会ったコロニーを作らない *Symbiobacterium thermophilum* によって、DNAを通して微生物を見る新しい時代の到来を多少早く知ると同時に、微生物における共生の驚くべき多様性に目を開かされた。自然界における微生物集団の、進化も含めた時間的、地理的挙動に取り組む新しい微生物生態学が、「微生物という生き方」の基礎ばかりでなく、応用においても成果を生み始めていることに注目したい。



【経 歴】

- 1961年 東京大学大学院化学系研究科農芸化学専門課程博士課程修了
- 1977年 東京大学農学部教授
- 1994年 東京大学名誉教授
- 1994年 日本大学生物資源科学部教授
- 2005年 日本学士院会員
- 2009年 日本大学大学院総合科学研究科教授退任

受賞等

- 1986年 日本農芸化学会賞
- 1990年 国際微生物学会連合有馬賞
- 1995年 日本放線菌学会特別功績賞
- 1995年 アメリカ工業微生物学会チャールス・トム賞
- 1996年 紫綬褒章
- 1998年 日本学士院賞
- 2009年 瑞宝重光賞
- 2012年 文化功労者



公益財団法人 発酵研究所
Institute for Fermentation, Osaka (IFO)

公益財団法人・発酵研究所（IFO）の研究助成の特徴は、微生物研究の基盤である微生物の分離、分類、保存などに携わる研究者を主軸に、健康や環境に関する研究まで広げた微生物研究者だけを対象としていることにあります。微生物の研究はライフサイエンスおよびバイオテクノロジーの基本となるため、近年その重要性が見直されつつあります。従ってその研究を経済的に支援することは大きな意義があると考える当財団は、これまでに多くの研究者に助成金を支給してきました。平成 20 年度から微生物の研究のみならず教育も支援する目的で、寄付講座助成を開始しました。これまでに、京都大学、北海道大学、九州大学、大阪大学、東京大学、石川県立大学、北里大学、首都大学東京に寄付講座が設置されています。

【公益財団法人・発酵研究所 Institute for Fermentation, Osaka (IFO)】

〒532-8686 大阪市淀川区十三本町 2 丁目 17 番 85 号

電話：06-6300-6555 FAX：06-6300-6814

URL: <http://www.ifo.or.jp>

【沿革】

- | | |
|----------------------|---|
| 1944 年（昭和 19 年） 12 月 | 内閣技術院と武田薬品工業株式会社との共同出資により、有用微生物の収集・保存・分譲と航空用の燃料、医薬品、食料の生産研究を目指して「財団法人航空醗酵研究所」として設立した。 |
| 1945 年（昭和 20 年） 11 月 | 「財団法人醗酵研究所」に改称し、文部省の所管となる。 |
| 1960 年（昭和 35 年） 6 月 | 応用研究部門を武田薬品工業株式会社へ移管し、微生物株の収集・保存・分譲業務に特化した。 |
| 1961 年（昭和 36 年） 5 月 | 「財団法人発酵研究所」に改称した。 |
| 1984 年（昭和 59 年） 5 月 | 動物細胞株の収集・保存・分譲業務を追加した。 |

2000年（平成12年）	12月	文部省専管から文部省、通産省の共管となる。
2001年（平成13年）	4月	動物細胞株および所員をヒューマンサイエンス振興財団研究資源バンク（現 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所）へ移した。
2002年（平成14年）	7月	微生物株および所員を独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター（NBRC）へ移した。
2003年（平成15年）	4月	助成事業を開始した。
2008年（平成20年）	10月	寄付講座助成を開始した。
2010年（平成22年）	4月	一般研究助成、大型研究助成、若手研究者助成を開始した。
2010年（平成22年）	12月	「IFO 微生物学概論」を出版した。
2011年（平成23年）	4月	「公益財団法人」へ移行した。

**公益財団法人発酵研究所寄附講座
東北大学大学院生命科学研究科
微生物進化機能開発講座**

【連絡先】

永田裕二 (Yuji Nagata)
〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平 2-1-1
東北大学大学院生命科学研究科
微生物進化機能開発講座
生命科学研究科本館 3 階 306 号室・307 号室
TEL&FAX 022-217-6227
E-mail aynaga@ige.tohoku.ac.jp



公益財団法人 発酵研究所
Institute for Fermentation, Osaka (IFO)



TOHOKU
UNIVERSITY