講座 寄附講座

2.10.1 研究分野：産業微生物学講座

構成員：	特定教授	横関 健三
	特定准教授	萩下 大郎
	特定助教	日比 慎、岸野 重信
	特定研究員	1名
	研究員	1名

A. 研究活動（2010.4～2011.3）

A-1. 研究概要

微生物の有する優れた潜在機能を活用したクリーンな「ものづくり」を目指した研究を行っている。自然界で起きている現象を謙虚に見つめ、新しい現象を探り出すことが大切であり、微生物の有する新しい有用潜在機能を如何に見出すかが重要なポイントである。

a) N-アセチルノイラミン酸の新規生産プロセスの構築

インフルエンザ治療薬の原料として用いられているN-アセチルノイラミン酸を、安価な原料であるN-アセチルグルコサミンとピルビン酸から生産するプロセスの構築を目指している。N-アセチルグルコサミンをN-アセチルマンノサミンに変換する酵素（エピメラーゼ）、およびN-アセチルマンノサミンとピルビン酸からN-アセチルノイラミン酸を生成する酵素（アルドラーゼ）を保持する微生物のスクリーニングを実施している。取得した2種の酵素類を様々な組み合わせで用いることにより、ワンポット中でのN-アセチルノイラミン酸の効率的な生産を検討している。

b) 水酸化アミノ酸生産に有用な新規酵素の探索と機能解析

抗糖尿病作用などが認められる4-ヒドロキシイソロイシンを始めとして、水酸化アミノ酸には多彩な生理活性を持つ物が存在しており、その効率的な生産法が求められている。アミノ酸の直接水酸化反応を触媒する α -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼをゲノムデータベースより選別することで、様々なアミノ酸の水酸化に有用な酵素の取得を実施している。またプロキラルなカルボニル基を持つアミノ酸を還元して酵素であるNAD(P)⁺依存性レダクターゼを用いることで、光学活性水酸化アミノ酸の立体選択的生産法の開発を実施している。

c) 新規機能油脂生産方法の構築

種々の有用な生理活性を有する共役リノール酸の効率的生産方法の構築を目指しており、最初のターゲットとして、リノール酸からの共役リノール酸生産方法を開発した。現在、各反応を担う乳酸菌由来酵素の精製と大量発現系の構築、各酵素の諸性質の解析、酵素を用いた安価な共役リノール酸生産法の構築、さらには多様な脂質生産法の構築を目指している。

d) 新規微生物酸化酵素の探索とその応用

パルプ漂白や排水処理など多様な産業用触媒として活用できるペルオキシダーゼ、ラッカーゼなどの酸化酵素類を微生物より広く探索を実施している。また難分解性な環境汚染物質の酸化分解を可能にする「ラッカーゼ・メディエーターシステム」の開発を目指し、天然から有望なメディエーターを探索している。

e) ステロイド類の生産に有用な酵素の探索と開発

ステロイドホルモンの供給法としてコレステロールの微生物変換による効率的な生産方法の確立が求められている。ステロール骨格の側鎖の修飾に関与する新規な有用酵素を保持する微生物の探索を進めている。特にコレステロールから17位の炭素にアセチル基を持つステロイドホルモンの微生物生産法の確立を目指している。

A-2. 研究業績（国内・国外含む）

a) 成果刊行

著書

・岸野重信, 小川 順. 特集 バイオマスからの有用物質生産プロセス最前線 脂肪酸誘導体の合成. BIO INDUSTRY, 27 (11), 32-37 (2010)

原著論文 (書評論文を含む)

・Kishino S., J. Ogawa, K. Yokozeki, S. Shimizu. Linoleic acid isomerase in *Lactobacillus plantarum* AKU1009a proved to be a multi-component enzyme system requiring oxidoreduction cofactors. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75(2), 318-322 (2011) 査読有

・Ogawa, J., T. Kodera, S.V. Smirnov, M. Hibi, N.N. Samsonova, R. Koyama, H. Yamanaka, J. Mano, T. Kawashima, K. Yokozeki, S. Shimizu. A novel l-isooleucine metabolism in *Bacillus thuringiensis* generating (2S, 3R, 4S)-4-hydroxyisooleucine, a potential insulinotropic and anti-obesity amino acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 89 (6), 1929-1938 (2011) 査読有

・Smirnov, S.V., T. Kodera, N.N. Samsonova, V.A. Kotlyarova, N.Y. Rushkevich, A.D. Kivero, P. M. Sokolov, M. Hibi, J. Ogawa, S. Shimizu. Metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce (2S, 3R, 4S)-4-hydroxyisooleucine. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 88 (3), 719-726 (2010) 査読有

・Nakatani, M., M. Hibi, M. Minoda, J. Ogawa, K. Yokozeki, S. Shimizu. Two laccase isoenzymes and a peroxidase of a commercial laccase-producing basidiomycete, *Trametes* sp. Ha1. *N Biotechnol.*, 27 (4), 317-323 (2010) 査読有

・Kishino, S., J. Ogawa, A. Ando, K. Yokozeki, S. Shimizu. Microbial production of conjugated γ -linolenic acid from γ -linolenic acid by *Lactobacillus plantarum* AKU 1009a. *J. Appl. Microbiol.*, 108 (6), 2012-2018 (2010) 査読有

総説

・岸野重信, 小川 順. 第7章 バイオプロダクトと新プラットフォーム形成 「9. 脂肪酸誘導体の合成」. 地球環境シリーズ エコバイオリファイナーリー 一脱石油社会へ移行するための環境ものづくり戦略一、(植田充美、田丸 浩 監修), (株シーエムシー出版, 213-219 (2010))

・小川 順, 櫻谷英治, 岸野重信, 安藤晃規, 清水 昌. 第5編-第1章-第5節「3. 有用脂肪酸の生産」. 酵素利用技術大系 (小宮山眞監修), エヌ・ティー・エス, 430-433 (2010)

特許

・Smirnov, S.V., Samsonova, N.N., Kotliarova, V.A., Rushkevich, N.Y., Fedorina, E.A., Sokolov, P.M., Kolokolova, A.V., Ogawa, J., Hibi, M., Shimizu, S., Imabayashi, Y., Suzuki, S., Sugiyama, M.
Method for producing hydroxylated amino acids
特許出願番号 W0/2011/021717 (2011)

・Hibi M, Kodera T, Kotliarova VA, Ogawa J, Rushkevich NY, Samsonova NN, Shimizu S, Smirnov SV, Kozlov YI.
Manufacturing 4-hydroxy isoleucine or its salt for promoting insulin secretion, by contacting 2-amino-3-methyl 4-keto pentanoic-acid reductase derived from microorganisms e.g. Nocardia with 2-amino-3-methyl 4-keto pentanoic acid.
特許出願番号 W02009060963-A1; JP2009131254-A (2010)

・油脂分解微生物、微生物固定化担体、排水の処理方法、並びに排水処理システム
特願2010-26324

- ・油脂分解微生物、微生物固定化担体、排水の処理方法、並びに排水処理システム
特願2010-26325

b) 学会発表

- ・ The 12th Japanese-Swiss Meeting on Biotechnology and Bioprocess Development (1件)
- ・ 第62回日本生物工学会 (3件)
- ・ 2011年度日本農芸化学会大会 (12件)
- ・ 101th AOCs Annual Meeting & Expo (2件)
- ・ The Eleventh China-Japan-Korea Joint Symposium on Enzyme Engineering (1件)
- ・ 6th International Symposium on Biocatalysis and Biotechnology (1件)
- ・ 酵素工学研究会第64回講演会 (1件)
- ・ 第1回学際的脂質創生研究部会講演会 (3件)
- ・ 日本醸造学会若手の会 (1件)

A-3. 国内における学会活動など①

所属学会等 (役割)

- ・ 横関 健三：日本生物工学会 (評議委員)、酵素工学研究会 (名誉会員)

A-3. 国内における学会活動など②

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・ 若手研究 (B)：日比慎：オンデマンド型水酸化アミノ酸生産を目指した新規微生物酵素の包括的スクリーニング
- ・ 基盤研究 (B)：横関健三：無保護でのペプチド合成のための新規ペプチド合成酵素の探索と開発

②その他の競争的資金

- ・ NEDO受託研究：岸野重信：微生物を用いた選択的な機能性脂質生産法の確立

B. 教育活動 (2010. 4～2011. 3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目 (担当教員)

- ・ 学部： 産業微生物学 (横関)、応用微生物学実験 (萩下・日比・岸野)

- ・ 大学院： 産業微生物学特論 (横関)、発酵生理及び醸造学専攻演習 (横関・萩下・日比・岸野)、発酵生理及び醸造学専攻実験 (横関・萩下・日比・岸野)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- ・ 横関健三：東京大学大学院農学研究科「特別講義」
- ・ 横関健三：九州大学農学部「バイオテクノロジー論」
- ・ 横関健三：京都学園大学講義「特別講義」
- ・ 横関健三：創価大学講義「バイオテクノロジー特別講義」