

講座

応用微生物学

2.3.8 研究分野：制御発酵学

構成員：	教授	阪井 康能
	准教授	由里本博也
	助教	奥 公秀
	大学院博士後期課程	7名
	大学院修士課程	10名
	専攻4回生	4名
	その他	1名
	博士研究員 (PD)	1名
	特定研究員	1名

A. 研究活動 (2010. 4～2011. 3)

A-1. 研究概要

a) 有用タンパク質生産のための分子細胞生物学

天然ガス由来のメタノールを利用する微生物メチロトロフによる「C1発酵」の領域を開拓・発展させ、その生体触媒およびタンパク質合成系としての有用性を明らかにしてきた。特にメタノール資化性酵母を用いる異種遺伝子発現系を開発して、酵素などのタンパク質あるいは中間代謝物を合成するための新しい生体触媒システムを確立した。この異種遺伝子発現系は、動物・植物など他の高等生物由来の有用タンパク質の生産系として高い関心を集めている。さらに、本酵母に特徴的な細胞内小器官であるペルオキシソームについて、酵素や遺伝子の分析による機能解析、及びタンパク集積や分解過程の分子メカニズムについての研究を行っている。

b) 新規代謝機能の開発

メタノール資化性酵母の持つ遺伝子発現系とあわせて、その代謝機能を活用すべく、酵母のメタノール代謝に関与する遺伝子をクローニングして、その代謝および遺伝子発現調節機構を分子レベルで明らかにしつつある。メタノール資化性細菌がもつホルムアルデヒド固定酵素遺伝子群について、非メチロトロフ細菌やアーケアにおいてもその存在を確認し、酵素・遺伝子両面からの解析によりその生理的意義の解明や代謝機能の応用利用に関する研究を行っている。さらにメタン、メタノールの他に短鎖のアルカンに生育する微生物を未来型天然資源として取り上げ、生化学的側面、分子生物学的側面、細胞内構造的側面の3つの観点から、微生物が持っている細胞機能を遺伝子レベルで解明し、活性型有用タンパク質の生産などの応用研究へと発展させる。

c)細胞内酸化ストレス観察技術の開発

酸化ストレスとその原因物質は、生体分子に損傷を与え、癌化や老化その他様々な障害・疾患を引き起こすが、このような現象を深く理解するためには、酸化ストレス原因物質の細胞への影響や細胞内酸化ストレスの動態を、定量的かつ時空的にモニタリングすることが必要である。細胞内酸化ストレス（酸化還元ポテンシャル）を非侵襲的にリアルタイムで可視化できる蛍光分子プローブを開発し、酵母細胞や動物細胞をモデルにして細胞内での局所的な酸化ストレス動態のモニタリング技術の開発を行っている。

A-2. 研究業績（国内・国外含む）

a)成果刊行

原著論文（書評論文を含む）

・Sasano, Y., H. Yurimoto, M. Kuriyama and Y. Sakai: Trm2p-dependent derepression is essential for methanol-specific gene activation in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. （査読有）FEMS Yeast Res 10; 535-544, 2010

・Nakagawa, T., S. Fujimura, T. Ito, Y. Matsufujii, S. Ozawa, T. Miyaji, J. Nakagawa, N. Tomizuka, H. Yurimoto, Y. Sakai and T. Hayakawa: Molecular characterization of two genes with high similarity to the dihydroxyacetone synthase gene in the methylotrophic yeast *Pichia methanolica*. （査読有）Biosci Biotechnol Biochem 74; 1491-1493, 2010

• Nakagawa, T., K. Yoshida, A. Takeuchi, T. Ito, S. Fujimura, Y. Matsufujii, N. Tomizuka, H. Yurimoto, Y. Sakai, and T. Hayakawa: Peroxisomal catalase gene in the methylotrophic yeast *Pichia methanolica*. (査読有) *Biosci Biotechnol Biochem* 74; 1733-1735, 2010

• Yano, T., M. Oku, N. Akeyama, A. Itoyama, H. Yurimoto, S. Kuge, Y. Fujiki and Y. Sakai: A novel fluorescent sensor protein for visualization of redox states in the cytoplasm and in peroxisomes. (査読有) *Mol Cell Biol* 30; 3758-376, 2010

• Song, Z., I. Orita, F. Yin, H. Yurimoto, N. Kato, Y. Sakai, K. Izui, K. Li and L. Chen: Overexpression of an HPS/PHI fusion enzyme from *Mycobacterium gastri* in chloroplasts of geranium enhances its ability to assimilate and phytoremediate formaldehyde. (査読有) *Biotechnol Lett* 32; 1541-1548, 2010

• Iguchi, H., H. Yurimoto and Y. Sakai. Soluble and particulate methane monooxygenase gene clusters in the type I methanotroph *Methylovulum miyakonense* HT12. (査読有) *FEMS Microbiol Lett* 312; 71-76, 2010

• Orita, I., A. Kita, H. Yurimoto, N. Kato, Y. Sakai and K. Miki: Crystal structure of 3-hexulose-6-phosphate synthase, a member of the orotidine 5'-monophosphate decarboxylase suprafamily. (査読有) *Proteins* 78; 3488-3492, 2010

• Tamura, N., M. Oku and Y. Sakai: Atg8 regulates vacuolar membrane dynamics in a lipidation-independent manner in *Pichia pastoris*. (査読有) *J Cell Sci* 123; 4107-4116, 2010

• Fukuta, Y., S. Nanda, Y. Kato, H. Yurimoto, Y. Sakai, H. Komeda and Y. Asano: Characterization of a new (R)-hydroxynitrile lyase from the Japanese apricot *Prunus mume* and cDNA cloning and secretory expression of one of the isozymes in *Pichia pastoris*. (査読有) *Biosci Biotechnol Biochem* 75; 214-220, 2011

総説

・ Oku, M. and Y. Sakai: Peroxisomes as dynamic organelles: autophagic degradation. FEBS J 277; 3289-3294, 2010

・ 由里本博也, 阪井康能: C1微生物と植物の相互作用と炭素循環 ー代謝生化学・分子細胞生物学からの理解ー. 植物の生長調節 45(2); 125-131, 2010

・ 由里本博也, 阪井康能: 光合成経路と相性のよいホルムアルデヒド固定反応. バイオサイエンスとインダストリー 69(1); 46-48, 2011

・ 奥 公秀, 阪井康能: Redoxfluorを用いた細胞内酸化還元状態の可視化. 実験医学 29(6); 945-950, 2011

特許

・ 特願2010-183287 「メタン酸化菌に対して用いられるメタン酸化活性向上剤、及びその利用」
発明者: 阪井康能、井口博之、由里本博也 出願人: 国立大学法人京都大学 特許出願日: 平成22年8月18日

b) 学会発表

・ 日本農芸化学会大会2011年度大会 (19件)

- ・ 第43回酵母遺伝学フォーラム（2件）
- ・ 日本ビタミン学会第62回大会（1件）
- ・ 第1回オートファジー研究会（4件）
- ・ 第26回日本微生物生態学会（1件）
- ・ 第19回酵母合同シンポジウム（1件）
- ・ 生体キノン研究会第9回講演会（1件）
- ・ 日本薬学会第131回年会（1件）

A-3. 国内における学会活動など①

所属学会等（役割）

- ・ 阪井 康能：日本農芸化学会（理事（広報）、英文誌編集委員、関西支部評議員）、酵母遺伝学フォーラム（運営委員）、酵母研究会（庶務幹事）、バイオインダストリー協会新資源生物変換研究会（副会長、常任幹事）、日本細胞生物学会（評議員）、日本生化学会（評議員）
- ・ 由里本博也：酵母研究会（運営委員）

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

- ・ 特定領域研究：阪井 康能：オートファジーによる選択的細胞内分解のメカニズム
- ・ 基盤研究（B）：阪井 康能：C1微生物を中心とした複合生物系による分子循環と炭素固定
- ・ 基盤研究（B）：由里本博也：微生物におけるC1化合物代謝制御の分子基盤に立脚した環境技術開発

②その他の競争的資金

・ 科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業（CREST）：阪井 康能：代謝が支配するオルガネラ-ホメオスタシスと高次機能発現（真核微生物）

・ 上原記念生命科学財団 平成22 年度研究助成金：阪井 康能：細胞内分解とレドックス：関連の分子機構

A-4. 国際交流・海外活動①

国際会議・研究集会等（国、役割）

・ 阪井 康能：ゴードン会議「ストレス，発生，疾病におけるオートファジー」（イタリア、招待講演）、ゴードン会議「微生物のC1化合物代謝の分子基盤」（米国、研究発表）、2010年スイス酵母会議（スイス、招待講演）、第1回日中オートファジーシンポジウム（中国、招待講演）、第2回日本-アルゼンチンワークショップ（東京、招待講演）

国際共同研究・海外学術調査等

・ 阪井 康能，由里本博也：日本学術振興会アジア研究教育拠点事業 微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築（タイ、ベトナム、ラオス）

A-4. 国際交流・海外活動②

外国人研究者の受入

- ・ 教授 1名 （タイ）
- ・ 教授 1名 （カナダ）

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）

- ・ 全学共通科目： 基礎情報処理演習（由里本）

- ・学部： 応用生命科学入門Ⅱ（阪井）、応用微生物学Ⅰ（阪井）、応用微生物学Ⅱ（由里本）、応用微生物学Ⅲ（由里本）、応用微生物学Ⅳ（阪井）、生化学Ⅰ（由里本）、応用微生物学実験（由里本、奥）、応用生命科学演習Ⅰ、Ⅱ（阪井、由里本、奥）
- ・大学院： 制御発酵学専攻演習（阪井、由里本、奥）、制御発酵学専攻実験（阪井、由里本、奥）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- ・阪井康能：東京大学大学院 農学生命科学研究科 大学院講義 「生命工学フロンティア」

B-3. 国際的教育活動①

留学生・外国人研修員の受入

- ・留学生： 博士課程 2名（中国 1、ベトナム 1） 研究生等 1名（ネパール）

C. その他

- ・阪井 康能：(財)地球環境産業技術研究機構研究所技術評価分科会（委員）、CO2固定化・有効利用技術検討委員会（委員）、(財)国際環境技術移転研究センター技術開発促進事業評価委員会（委員）、京都市医・工・ライフサイエンス連携プロジェクト検討委員会委員（委員）

