

最先端・次世代研究開発支援プログラム  
事後評価書

研究課題名	バクテリオナノファイバー蛋白質の機能を基盤とする界面微生物プロセスの構築
研究機関・部局・職名	名古屋大学・大学院工学研究科・教授
氏名	堀 克敏

## 【研究目的】

高付着性細菌 *Acinetobacter* 属 Tol 5 細胞上に発見した三量体型オートトランスポーターアドヘシン (TAA) に属する AtaA は、様々な固体表面へ高い接着性を示す新規ナノファイバー蛋白質である。当初、複数の細かい課題を多岐にわたって設定したため、採択当時、重点を置くテーマをはっきりさせるようにとの指摘があった。そこで本研究の課題を大枠にまとめると、結局は下記の三つが主目的であった。

- 1) 微生物固定化技術の開発 : AtaA の接着特性を利用して有用微生物の固定化技術を開発する。
- 2) 機能性被毛微生物の作出 (ファイバー提示) : AtaA に機能性ペプチド・蛋白質を融合し、機能性ナノファイバーで覆われた被毛微生物を作出する。
- 3) AtaA の分子構造・機能解析 : AtaA の機能部位と作用機構、接着力、界面との相互作用、強度・弾性などのファイバーの力学特性を解析し、非特異的ながら高付着性を発揮する分子機構についての知見を得る。

## 【総合評価】

<input type="radio"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="radio"/>	十分な成果が得られていない

## 【所見】

## ① 総合所見

本研究で、新規接着蛋白質 AtaA の接着特性を利用し、大腸菌、酵母といった主要な工業微生物を含む多くの微生物の固定化、微生物細胞表層への様々な機能性ペプチド・蛋白質等が実現できることを、具体的なモデルケースにより示した。また、AtaA ファイバーは蛋白質であるため、その遺伝子を改変することで、様々な機能を有する機能性ナノファイバーを、いろいろな微生物細胞上に形成させることの可能性、すなわち、有用な機能性の毛で覆われた機能性被毛微生物を、自在に設計できるようになることを示した。これにより、今後多くの応用分野が開けていくものと期待できる。

実際多くの企業とで共同研究が行われつつある。

以上本研究は特に優れた成果を上げたと考えられる。

## ② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

本研究の3つの課題について下記のような成果を挙げた。

1) 微生物固定化技術の開発：色素生産菌、エステラーゼ生産菌、水素生産菌、大腸菌に *AtaA* 遺伝子を導入、発現させ、付着性を付与して固定化することに成功した。固定化微生物を利用して、分離精製の簡略化、繰り返し反応・連続反応プロセスの構築、生産性の大幅向上などを達成した。

2) 機能性被毛微生物の作出（ファイバー提示）：種々の機能性ペプチドを遺伝子レベルで *AtaA* 遺伝子に融合し、これら機能分子を融合した機能性ナノファイバーを生やした機能性被毛微生物の作出に成功した。また、ファイバーの長さを変えることにより、細胞表層からの提示位置を変えることにも成功した。さらに、ソルターゼによるトランスペプチダーゼ反応を利用して、*AtaA* ファイバーに蛍光蛋白質を連結させるポストアッセムブリー修飾にも成功した。

3) *AtaA* の分子構造・機能解析：本研究者の解析手法により、*AtaA* の接着には塩が必須であるという接着特性と、固体表面に対する親和性は非特異的でありながら  $K_d=10^{-10}$  M と抗原抗体相互作用以上のレベルであることを明らかにした。*AtaA* は表面への非特異的接着力は大きいですが、細胞レベルでみると、むしろ *AtaA* の分子間相互作用による細胞自己凝集が付着を支配しているとの見解を得た。

以上、初期の計画以上の成果が挙げられたと考えられる。

## ③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が  
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が  
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

独自に発見した新規接着蛋白質 *AtaA* の接着特性を利用し、様々な機能性ペプチド・蛋白質等が実現できること、また、*AtaA* ファイバーは蛋白質であるため、その遺伝子を改変することで、様々な機能を有する機能性ナノファイバーをいろいろな微生物細胞上に形成させることの可能性を示した。これは他に例を見ない *AtaA* の強い接着特性を示すもので、革新性、優位性があり、界面微生物プロセス分野に多くのブレークスルーをもたらすものと期待できる。

#### ④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が  
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が  
(見込まれる ・ 見込まれない)

本研究で、AtaA の固体表面への親和性は抗原抗体反応より高く、接着力は生体分子間相互作用最強レベルであるビオチン-アビジンをも凌ぐことが、物理化学的に明確になった。しかもそれは単に分子の大きさに起因するものではなく、AtaA 分子の固体表面に対する非特異的相互作用はである。これは従来の考えと異なるものである。AtaA の接着メカニズム、さらに AtaA を介する微生物細胞の固定化メカニズムも、大分明らかになってきていおり、近い将来、接着/細胞固定化蛋白質を完全人工設計できるようになると推察される。また、AtaA のようなマルチドメイン構造蛋白質は、蛋白質化学の進展への寄与も見込まれる。よって、本研究の成果は関連分野に大きな波及効果があると考えられる。

#### ⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

当初は研究スタッフがいなかったが、4人の若手研究員を雇用し、研究実施体制を整えることができた。4人の研究員・助教の専門は、分子生物学、微生物工学、原子間力顕微鏡、蛋白質構造解析であり、本研究の推進に必要な分野の人材を集めることができた。これにより研究の成果を挙げることができた。これらのスタッフのキャリアアップも順調に行っており、適切なマネジメントが行われたと考えられる。

雑誌論文 13 (掲載済み査読あり 8、掲載済み査読なし 5)、図書 4、会議発表 66 (専門家向け 57、一般向け 4、新聞報道 5、知的財産権 4 (取得済み 1 (欧米・アジア 7 개국で成立)、出願中 3))。また、成果を大学よりプレスリリースした。以上成果の発表公表、発信は適切に行われた。知財権の取得は戦略的に行われており、また、産学連携に積極取り組んでおり、これらは評価される。

国民との対話に関して、累積実績件数 6 件 (サイエンスカフェ 1 件、大学企画 3 件、FIRST シンポ 1 件、高校出前授業 1 件) が行われ適切に行われた。

##### 特記事項

2013 年 9 月 18 日 **生物工学論文賞**

2014 年 1 月 Biotech. Bioeng. 掲載論文が同誌でスポットライトされる