

微生物をいろいろな表面にくっつける繊維蛋白質を発見 微生物を好きな材料に固定してバイオ燃料や化学品を生産することが可能に

【概要】

名古屋大学工学研究科生物機能工学分野の堀克敏教授らは、プラスチック、ガラス、金属など様々な材料表面に微生物をくっつける新しい蛋白質を発見した。この接着蛋白質は繊維状で、よくくっつく性質をもつ特殊なバクテリアの細胞から、髪の毛のように生えているのを見つけた。堀教授らは既にその遺伝子も取得し、蛋白質を構成するアミノ酸の配列も決定した。この遺伝子を接着性のない別の微生物に導入したところ、その微生物も接着性を示すようになり、様々な材料表面にくっつくことができるようになった。さらにこの遺伝子が導入された微生物細胞を顕微鏡で観察し、元は禿げていた細胞から、粘着性の毛が生えていることを確認した。この技術により、産業上有用な微生物を、任意の材料表面に固定化することに成功した。既に、最も重要な産業微生物である大腸菌などにも適用可能であることを確認している。有用な微生物を固定したスポンジやガラスビーズを反応容器に入れれば、触媒機能を有する微生物を連続的に又は繰り返して化学反応に使用することができるため、微生物を使って化学品やバイオ燃料などを効率的かつ省エネルギーで生産できるようになる。本研究は、最先端・次世代研究開発支援（NEXT）プログラムとして実施されている（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）。堀教授は、固定化技術の実用化を目指し、大手化学品製造企業との共同研究にも着手している。研究成果は、米科学誌「プロスワン（PLOS ONE）」電子版にて11月15日に発表された（<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0048830>）。

微生物をいろいろな表面にくっつける繊維蛋白質を発見
微生物を好きな材料に固定してバイオ燃料や化学品を生産することが可能に
ー微生物を使ったグリーンプロセス普及のきっかけになるかー

【ポイント】様々な材料表面に微生物細胞を瞬間的にくっつける能力をもった新しい繊維蛋白質を発見した。この蛋白質の設計図である遺伝子を取得して、大腸菌のような産業上重要な微生物に導入することにより、任意の材料表面に微生物を固定する技術の開発に成功した。

【背景】

微生物による化学品やバイオ燃料の生産は、省エネルギーで廃棄物も少ないため、環境に優しいグリーンプロセスとして期待されてきた。しかし生産コストがかかるため、一部を除いて実用化が進んでいない。それを打開するため、微生物を何かに固定することがある。そうすれば、触媒として働く微生物の細胞を連続的にまたは繰り返して使用することができるからである。しかし、有効で汎用的な微生物固定化技術は存在しなかった。従来用いられてきた微生物の固定化方法は、ゲル状の高分子で微生物細胞を包み込む方法で、包括固定法と呼ばれている。しかしながらこの方法では、ゲルの内部にまで反応の原料となる化学物質や微生物に必要な栄養分が十分に浸透しない、ゲルから微生物が漏れ出してくる、攪拌などの機械的操作によりゲルが壊れやすいなどの欠点があり、有効な固定化法とは言えなかった。

堀克敏教授らは、10年ほど前に微生物による排ガス処理の研究をしている際に、活性汚泥の中から、非常に接着性の高い微生物であるアシネトバクターというバクテリアを分離した。微生物がものにくっつくという現象は広く知られており、最近ではバイオフィームなどとして注目を集めるようになった。しかし、堀教授らの見出したアシネトバクターというバクテリアは、他の微生物に比べて格段に接着性が高く、疎水性の各種プラスチックから、親水性のガラスや金属まで、いろいろな材料表面に瞬時にくっつくことができる。このような微生物はこれまで報告されたことはなかった。接着には細胞表面の疎水/親水性や電荷といった物理化学的な特性から、細胞が分泌する多糖類や粘着物質など、様々な要因が関係している可能性がある。堀教授らはこれらを一つ一つ解析していく中で、人と同様にこの微生物にもいろいろな種類の毛が生えていること、この毛の中に粘着性を示すものがあることを発見した。さらに、この粘着性の毛が蛋白質でできていることを明らかにし、“アタ”(AtaA)と名付け、その遺伝子まで取得し、解明するに至った。同遺伝子を微生物に導入することで、材料表面に微生物を直接固定するという、先述の包括固定法の欠点を克服した新しい微生物固定化法の開発に成功した。

【研究の内容】

今回発見した繊維蛋白質“アタ”は、いろいろな種類のバクテリアがもっている接着性繊維蛋白質である三量体型自己分泌接着蛋白質(TAAと呼ばれている)の一種である。普通のTAAは、特定の動物の細胞や組織などの生物表面にくっつく。すなわちくっつく相手が決まっ

ており、それ以外のものにくっつくことはほとんどできない。しかし“アタ”は、ポリプロピレンやポリ塩化ビニル、ポリスチレンといった各種プラスチック(一般的に疎水性)の表面から、ガラスや金属(一般的に親水性)にまで、様々な非生物表面にくっつくことができる。しかもその接着性は、他の TAA とは比較にならないほど高い。“アタ”が生えているアシネトバクターは、瞬間的に材料表面にくっつくことができるのである。

“アタ”蛋白質を構成するアミノ酸の配列は、普通の TAA よりずっと長く、ユニークな並びをしているため、詳しいメカニズムはまだわかっていないが、この並びに接着性をもたらす秘密がありそうである。“アタ”の遺伝子を人為的に破壊すると、この微生物(アシネトバクター)から AtaA の毛が消失し、“禿げ細胞”となり、くっつく能力も失った。遺伝子を戻してやると毛が再生し、再びくっつくことができるようになった。さらにこの遺伝子を、元来はくっつく性質を全く有さない別種のバクテリアに導入したところ、このバクテリアもいろいろな材料表面にくっつける能力を獲得した。またこのバクテリアの細胞表面からは、元来存在しなかった粘着性の毛が生えていることを確認した。

【成果の意義】

好きな材質・形状の材料表面に微生物を直接固定するという新しい微生物固定化技術により、微生物による化学品やバイオ燃料の生産効率は飛躍的に向上し、大幅なコストダウンにつながることを期待される。そうすれば微生物を使ったグリーンプロセスの本格的普及を呼ぶことになるであろう。既に、堀教授らは大手化学会社と実用化に向けた共同研究を開始している。

今回発見した繊維蛋白質は、接着性という機能を有している。既に遺伝子も取得しているため、遺伝子工学により単なる接着性以外の様々な機能を付与することも理論的には可能であり、堀教授らはそういった研究も開始している。

機能性の蛋白質としては、日本人の下村博士がノーベル賞をとったことで有名になった蛍光蛋白質がある。今回発見した蛋白質は、接着という機能と細胞から毛のように生えるという機能を有している。堀教授らは、このようなユニークな機能を有する蛋白質を改変していくことにより、蛍光蛋白質のような有用な機能性蛋白質を創り出すことを目指して、研究を進めている。

【論文名】

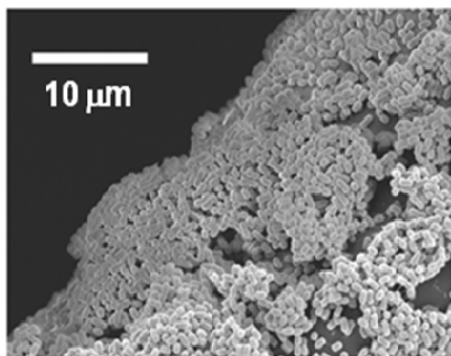
米国科学誌『PLOS ONE(プロスワン)』に掲載 (<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0048830>)
“AtaA, a new member of the trimeric autotransporter adhesins from *Acinetobacter* sp. Tol 5 mediating high adhesiveness to various abiotic surfaces” (“アタ”、アシネトバクター属細菌 Tol 5 株から見つかった様々な非生物表面に高い付着性をもたらす新しい三量体型自己分泌接着蛋白) Masahito Ishikawa, Hajime Nakatani, and Katsutoshi Hori (石川聖人、中谷肇、堀 克敏)

【用語説明】

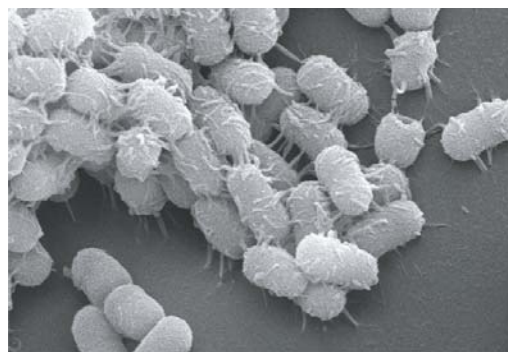
バイオフィルム: 固体表面上に付着した微生物と、微生物が分泌した多糖類などの高分子物質からなる膜状のもの。身近なバイオフィルムとして、水垢、ぬめりの他、虫歯の原因となるプラークなどがある。バイオフィルムには汚れの成分を分解する微生物が濃縮されているため、これを廃水処理や水の浄化に利用することができる。

活性汚泥: 下水処理場の処理工程や工場の廃水処理の工程で生じる有機物や微生物が凝集してできた懸濁物質。

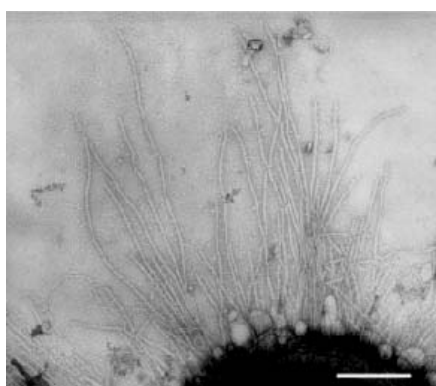
EPS: 微生物細胞が分泌する多糖類等から成る高分子で、バイオフィルムのマトリックスを形成する。



ポリウレタン表面にびっしりとくっつくアシネトバクター

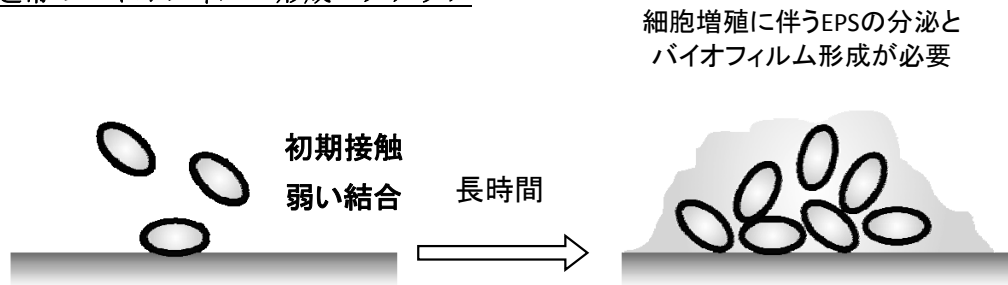


繊維蛋白質により表面に接着するアシネトバクター（走査型電子顕微鏡写真）

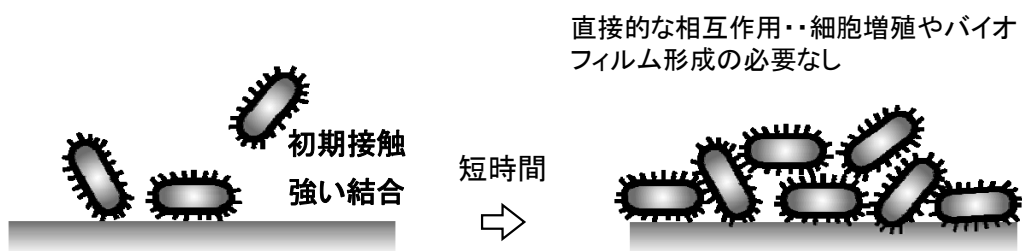


バクテリア細胞からは複数種類の毛が生えている。この中に粘着性のものがある（透過型電子顕微鏡写真）。

通常のバイオフィルム形成バクテリア



粘着性アシネトバクター



“アタ”による微生物細胞の固定化のイメージ

