

様式 C-7-1

平成18年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3      2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 特別研究員奨励費      4. 研究期間 平成18年度～平成19年度
5. 課題番号 1 8 ・ 7 9 0 9
6. 研究課題名 コリネ型細菌による木質系バイオマスの高効率分解

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	フガナ ツグ, ヨウタ 柘植, 陽太	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (DC2)

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	フガナ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

コリネ型細菌はアミノ酸生産等の分野で最も多用される産業微生物である。本菌は溶菌しにくく、増殖力が高い、また、菌体外プロテアーゼ等の分泌がほとんど認められないことから異種タンパク質生産の宿主として非常に有能であると考えられる。高いセルロース分解活性を有するセルラーゼ複合体として*Clostridium*属が産生するセルロソームが知られている。しかし、*C. cellulovorans*は嫌気性細菌であるため、増殖力等の問題から実用化は困難である。そこで本研究はセルロースを高効率に分解するコリネ型細菌の作製のため、*C. glutamicum*における*C. cellulovorans*由来のセルロソームの発現分泌系確立を目的としている。本年度は*C. glutamicum*の細胞表層タンパク質PS2のシグナルペプチドを用いて*Trichoderma reesei*由来のendoglucanaseの分泌発現を試みた。*T. reesei*の有するendoglucanase III, IV, Vをクローニングし、クロスオーバーPCR法を用いてシグナル配列との融合遺伝子を作製して*C. glutamicum* R株に導入した。CMCを基質とし、Congo redを用いたplate assayによりendoglucanase IIIの分泌、セルラーゼ活性を確認した。また、 $\alpha$ -アミラーゼの分泌をヨウ素でんぷん反応で検出するスクリーニング系により、コンピュータプログラムで分泌シグナルの存在が予測された310遺伝子のうち、88個が分泌能を有することが分かった。そのうち22個は他と比較して高い分泌能力を有していた。今後は*C. cellulovorans*の有するセルロソーム遺伝子群(CbpA、EngB等)と高分泌シグナル配列との融合遺伝子を作製し、分泌、セルラーゼ活性を確認する予定である。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4判縦長横書1枚)を添付すること。

10. キーワード

- |            |           |         |
|------------|-----------|---------|
| (1) コリネ型細菌 | (2) バイオマス | (3)     |
| (4)        | (5)       | (6)     |
| (7)        | (8)       | (裏面に続く) |

11. 研究発表(平成18年度の研究成果)  
〔雑誌論文〕 計(4)件

著者名	論文標題			
Tsuge Y., Suzuki N., Ninomiya K. Inui M. and Yukawa H.	Isolation of a new insertion sequence, IS13655 and its application to <i>Corynebacterium glutamicum</i> genome mutagenesis.			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
<i>Biosci Biotechnol Biochem</i> (印刷中)		2007		

著者名	論文標題			
Tsuge, Y., Suzuki, N., Inui, M., and Yukawa, H.	Random segment deletion based on IS31831 and Cre/loxP excision system in <i>Corynebacterium glutamicum</i> .			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
<i>Appl Microbiol Biotechnol</i> (印刷中)		2007		

著者名	論文標題			
Yukawa H., Omumasaba C.A., Nonaka H., Kos P., Okai N., Suzuki N., Suda M., Tsuge Y., Watanabe J., Ikeda Y., Vertes A.A. and Inui M.	Comparative analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> Group and complete genome sequence of strain.			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
<i>Microbiology</i>	153	2007	1042-1058.	

著者名	論文標題			
Suzuki, N., Okai, N., Nonaka, H., Tsuge, Y., Inui, M., and Yukawa, H.	High throughput transposon mutagenesis and construction mutant library of <i>Corynebacterium glutamicum</i> .			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	
<i>Appl Environ Microbiol</i>	72	2006	3750-3755	

著者名	論文標題			
雑誌名	巻・号	発行年	ページ	

〔図書〕 計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

12. 研究成果による工業所有権の出願・取得状況  
計(0)件

工業所有権の名称	発明者	権利者	工業所有権の種類、番号	出願年月日	取得年月日