

平成23年度
知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業

委託業務報告書

平成24年3月

財団法人 沖縄科学技術振興センター

目 次

第1章 事業の概要	1
1. 事業の概要	1
2. 実施体制	2
(1) 事業の実施体制	2
(2) 委託先における事業実施体制	3
(3) 再委託先における共同研究事業の実施体制	4
(4) 共同研究事業の実施計画	6
3. 研究研究事業の内容	7
3-1 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」	7
(1) 研究開発項目	7
(2) 再委託先における研究機関	9
3-2 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の 生産に関する研究開発」	12
(1) 研究開発項目	12
(2) 再委託先における研究機関	14
3-3 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用 したメタボロミックな基盤的研究」	16
(1) 研究開発項目	16
(2) 再委託先における研究機関	17
第2章 事業の内容	18
1. 研究拠点（オープンリサーチセンター）の整備	18
2. 情報発信・連携促進等	20
(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業シンポジウム」の開催	20
(2) 「沖縄ゲノムサイエンス講演会」の開催	26
(3) 「沖縄バイオサイエンスセミナー」の開催	27
(4) 「沖縄バイオサイエンスセミナー」の開催	28
3. 共同研究事業の推進	29
3-1 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」	29
(1) 研究成果の概要	30
研究開発項目①：共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究	30
①-1 「海産無脊椎動物に見られる共生機構の解明」	30
①-2 「微生物共生系を用いた細胞内共生機構の解明」	32
研究開発項目②：未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発	33
②-1 「未利用有用生物資源の探索」	33
②-1-1 「亜熱帯微生物資源ライブラリーからの有用機能性探索」	33
②-1-2 「深海を含む海洋環境からの有用酵素資源の探索」	36
②-1-3 「未利用真菌が生産する抗真菌化合物のスクリーニング解析」	37

②-2 「有用生物資源の探索技術開発」	39
②-2-1 「新規微生物資源探索技術開発」	39
②-2-2 「新規生成遺伝子探索技術開発」	40
研究開発項目③：有用生物資源の利用技術開発と高度化	41
③-1 「有用機能の発現に関わる遺伝子の解析」	41
③-1-1 「ホヤ類のセルロース合成系の解析」	41
③-1-2 「高温耐性に寄与するイソプレレン合成遺伝子の構造と制御機構の解析」	42
③-1-3 「未利用真菌の有用物質生産に関連する遺伝子の解析」	44
③-2 「効率的な有用物質生産を目指した生産技術の高度化」	46
③-2-1 「有用物質の生産性向上に向けた培養条件の検討」	46
③-2-2 「生成遺伝子異種発現技術の開発と天然化合物ライブラリーの構築」	47
研究開発項目④：先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発	48
④-1 「先端シーケンサーを活用したゲノム情報の高精度・高速解析技術の開発」	48
④-2 「先端シーケンサーのデータを有効活用するアプリケーションの開発」	49
(2) 研究推進委員会	50
(3) ネットワークの構築に向けた取り組み	52
3-2 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」	54
(1) 研究成果の概要	55
研究開発項目①：環境負荷の少ない環境浄化手法の開発	55
①-1 「原位置微生物群を応用した環境浄化技術の研究開発」	55
①-2 「原位置微生物群の培養技術開発及び実証研究」	56
研究開発項目②：沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究	57
②-1 「微細藻類、ラビリントウモ類株の収集」	57
②-2 「オイル、生理活性物質等有用物質探索」	60
②-3 「廃棄物（畜産廃水、養殖池廃水、し尿等）利用による培養法検討」	62
②-4 「有用微細藻類、ラビリントウモ類のゲノム解析」	63
②-5 「育種、スケールアップ、抽出法に関する研究」	64
(2) 研究推進委員会	65
(3) ネットワークの構築に向けた取り組み	67
3-3 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」	68
(1) 研究成果の概要	69
研究開発項目①：メタボローム解析の技術開発と高度化	69
①-1 「経皮吸収メタボローム解析研究開発」	69
①-2 「メタボローム解析比較による血液新規代謝・老化マーカー探索と経皮吸収効果検証」	71

①-3 「メタボローム解析の技術確立と ヒト吸収効率の研究」	72
研究開発項目②：沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発	73
②-1 「経皮吸収に適した沖縄産物候補の探索」	73
②-2 「沖縄産素材を用いたナノ粒子の製造技術開発」	74
研究開発項目③：沖縄長寿・肥満家系の調査と 疫学ゲノム解析の研究	75
(2) 研究推進委員	76
(3) ネットワークの構築に向けた取り組み	78

参考資料

1. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」に関連する外部発表一覧	79
2. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業シンポジウム」講演要旨	88

第1章 事業の概要

1. 事業の概要

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」は、沖縄県の科学技術振興に寄与する研究開発拠点として「オープンリサーチセンター」を整備し、琉球大学や沖縄科学技術大学院大学等の県内大学、研究機関及び企業等を中核とした研究開発事業を推進する事によって、様々な研究者、研究機関、企業との共同研究を介したネットワーク形成を促進し、沖縄県における持続的かつ発展的な研究開発の原動力となる「知的クラスター」の形成を目指している。

日本で唯一亜熱帯気候に属する沖縄県には、一次産業としての農林水産物や発酵産業を支える有用微生物、琉球列島独自のサンゴ礁の海洋生物等、特徴的かつ多様な地域資源が存在し、これらを活用したバイオベンチャー企業の参入などによる産業振興が期待されている。一方で、沖縄県では平成 24 年に沖縄科学技術大学院大学の開学が予定されており、世界トップレベルの研究者を中心とした先行研究事業が進められている。また、沖縄県では、ゲノムの高速度解析が可能な先端シーケンサーをいち早く導入し、これらを活用した事業が推進された実績があり、その波及効果により県内での導入実績が増加しており、世界的に見ても有数のゲノム解析拠点としての地位を確立しつつある。

以上のような背景を踏まえて、本事業では、沖縄の生物資源の利用技術開発と高度化を目的とした研究開発事業を、県内の高度な研究基盤を活用して推進し、且つそこに県内外の様々な研究者、研究機関及び企業が参画する事によって、本事業の基本計画に掲げる「知的クラスター」の形成に向けた研究拠点の構築を図ることを目指している。

平成 22 年度では、沖縄の生物資源の利活用に資する具体的な研究開発課題として、「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」を研究テーマとして、4つの研究開発項目、①「共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究」、②「未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発」、③「有用生物資源の利用技術開発と高度化」、④「先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発」について、8つの研究機関及び企業が共同で研究を推進した。

平成 23 年度では、上記研究開発項目に加え、「環境・エネルギー」分野、及び、「医療・健康」分野に関する2件の研究テーマが新たに採択された。

「環境・エネルギー」分野では、「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」を研究テーマとして、2つの研究開発項目、①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」について、5つの研究機関及び企業が共同で研究を推進することとなった。

「医療・健康」分野では、「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」を研究テーマとして、3つの研究開発項目、①「メタボローム解析の技術開発と高度化」②「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」③「沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析の研究」について、5つの研究機関及び企業が共同で研究を推進することとなった。

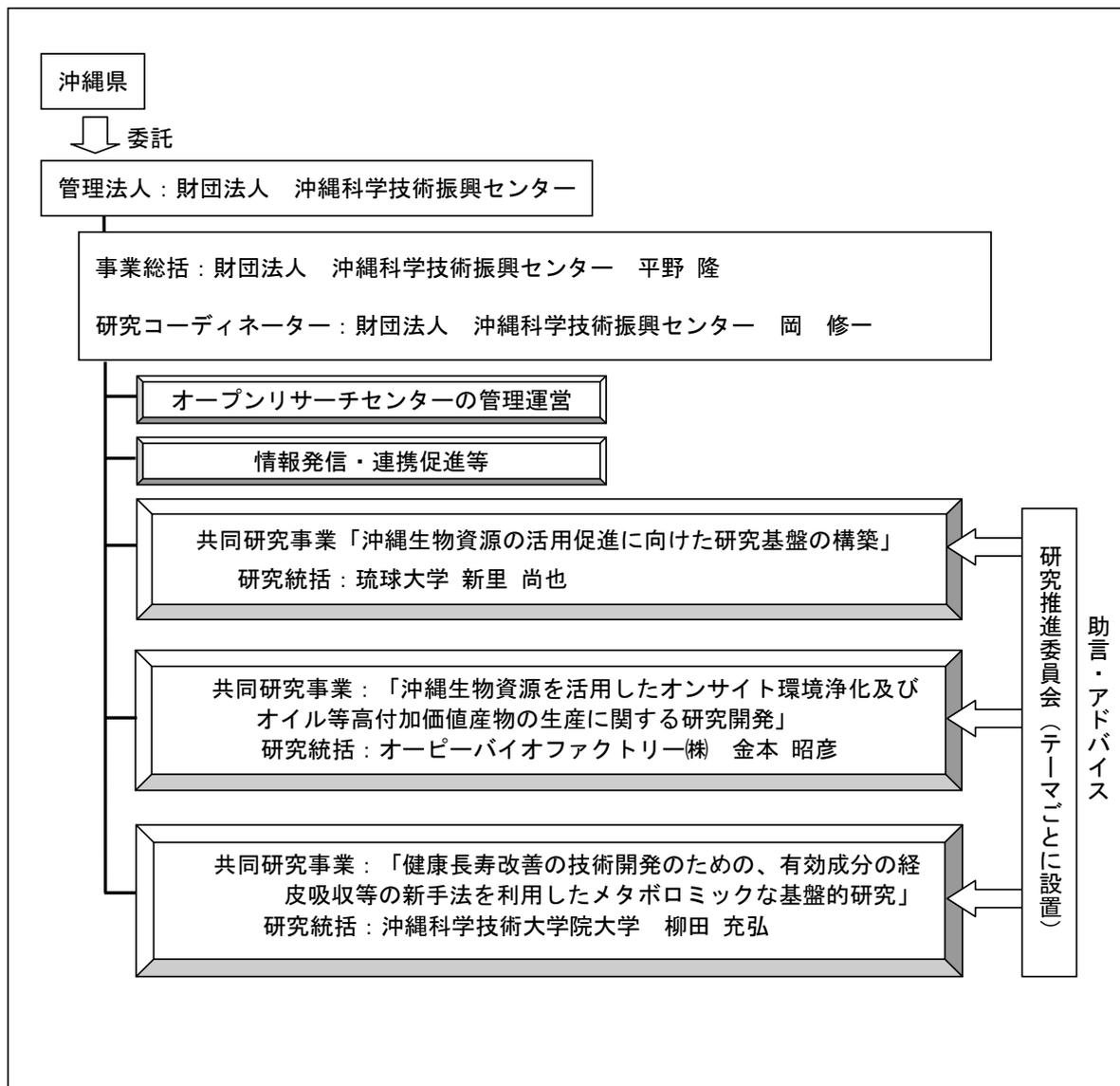
これらの研究開発の場として、平成 22 年度に整備した「オープンリサーチセンター(ORC) (沖縄県工業技術センター3F)」の機能を充実させるとともに、ORC を活用した研究者らの交流及びネットワーク形成の促進を図っている。

また、シンポジウムやセミナーを開催する事によって情報発信を行い、更なるネットワークの拡充を目指している。

2. 実施体制

(1) 事業の実施体制

「知的クラスター形成に向けた拠点構築事業」では、財団法人沖縄科学技術振興センターを管理法人として、下記の事業実施体制のもとで、1) 研究拠点（オープンリサーチセンター）の管理・運営、2) 情報発信・連携促進等、3) 共同研究事業の推進を行っている。



(2) 委託先における事業実施体制

PL等	氏名	所属・役職
事業総括	平野 隆	財団法人 沖縄科学技術振興センター 理事・事業総括
研究コーディネーター	岡 修一	財団法人 沖縄科学技術振興センター 研究コーディネーター
研究統括 研究テーマ① 「沖縄生物資源の活用促進 に向けた研究基盤の構築」	新里 尚也	琉球大学 熱帯生物圏研究センター 助教
研究統括 研究テーマ② 「沖縄生物資源を活用した オンサイト環境浄化及びオ イル等高付加価値産物の生 産に関する研究開発」	金本 昭彦	オーピーバイオファクトリー株式会社 代表取締役
研究統括 研究テーマ③ 「健康長寿改善の技術開発 のための、有効成分の経皮 吸収等の新手法を利用した メタボロミックな基盤的研 究」	柳田 充弘	沖縄科学技術大学院大学 教授

委託先	財団法人 沖縄科学技術振興センター
業務管理者	研究部長 具志堅 敏
研究実施場所	(主たる事業実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12 番 2 号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-989-0042 / FAX : 098-989-0043 (その他の事業実施場所) 〒900-0029 沖縄県那覇市旭町 112-18 沖縄県旭町会館 2 階 TEL : 098-866-7500 / FAX : 098-866-7533

(3) 再委託先における共同研究事業の実施体制

共同研究事業では、下記の3テーマを研究開発課題として掲げ、研究開発を行っている。

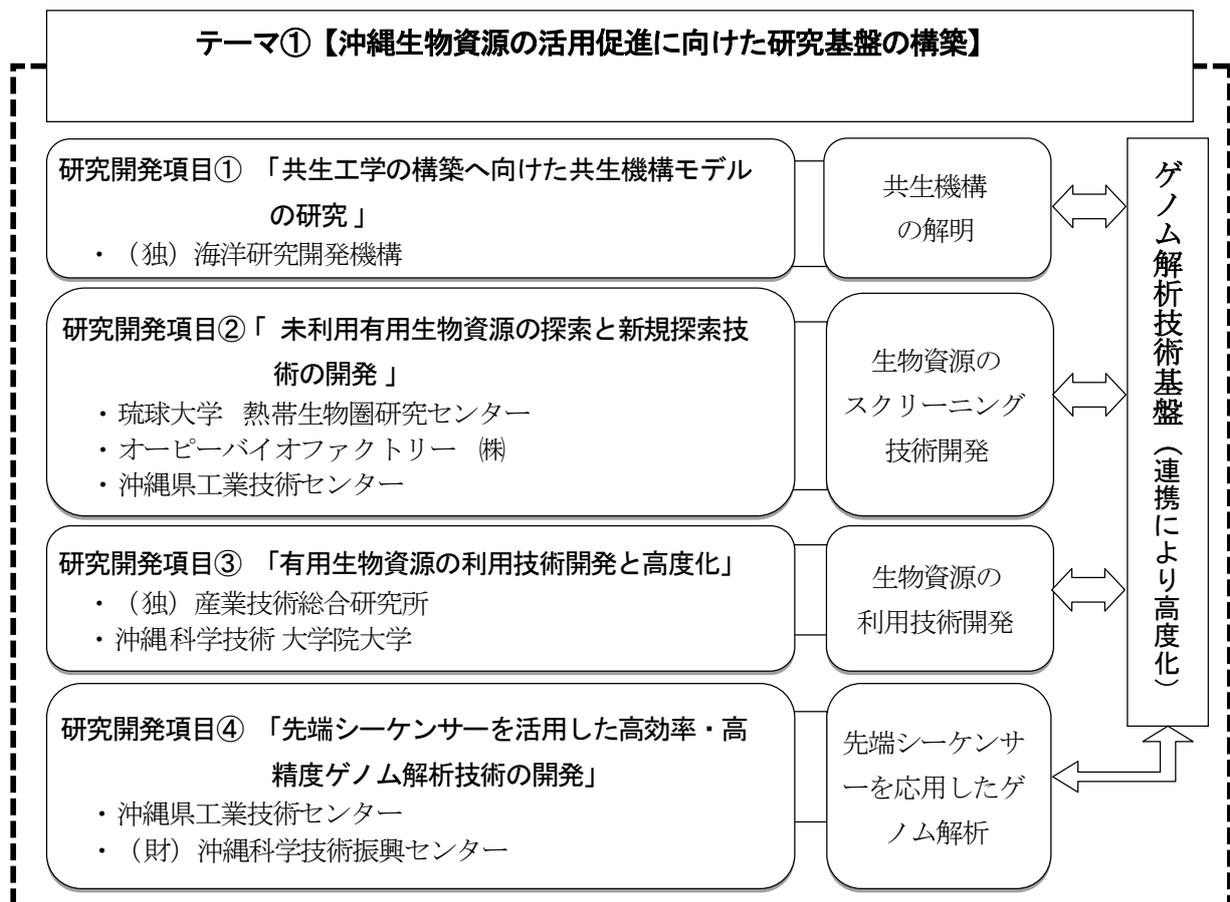
研究テーマ①「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」

研究テーマ②「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」

研究テーマ③「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」

研究テーマ①：【沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築】再委託先における研究体制

「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」では、琉球大学 熱帯生物圏研究センター、新里尚也研究統括の主導のもとで、7つの研究機関及び企業（琉球大学、沖縄科学技術大学院大学、独立行政法人海洋研究開発機構、独立行政法人産業技術総合研究所、沖縄県工業技術センター、オーピーバイオフィクトリー株式会社、財団法人沖縄科学技術振興センター）が、4つの研究開発項目について、共同で研究開発を行っている。

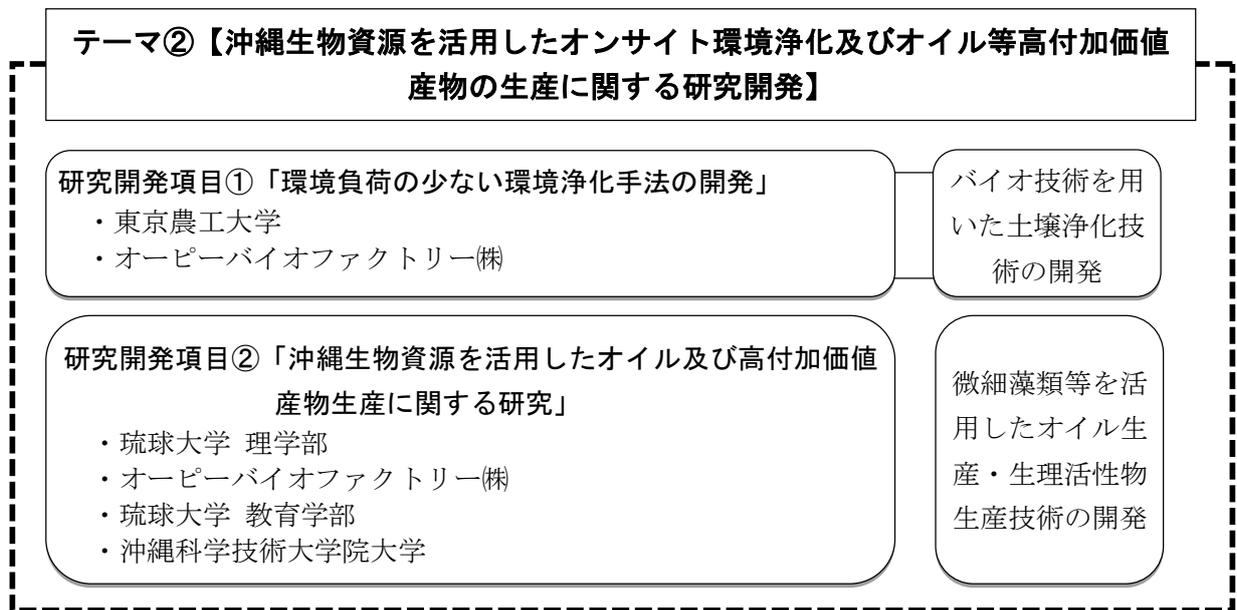


研究テーマ②：【沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究】

再委託先における研究体制

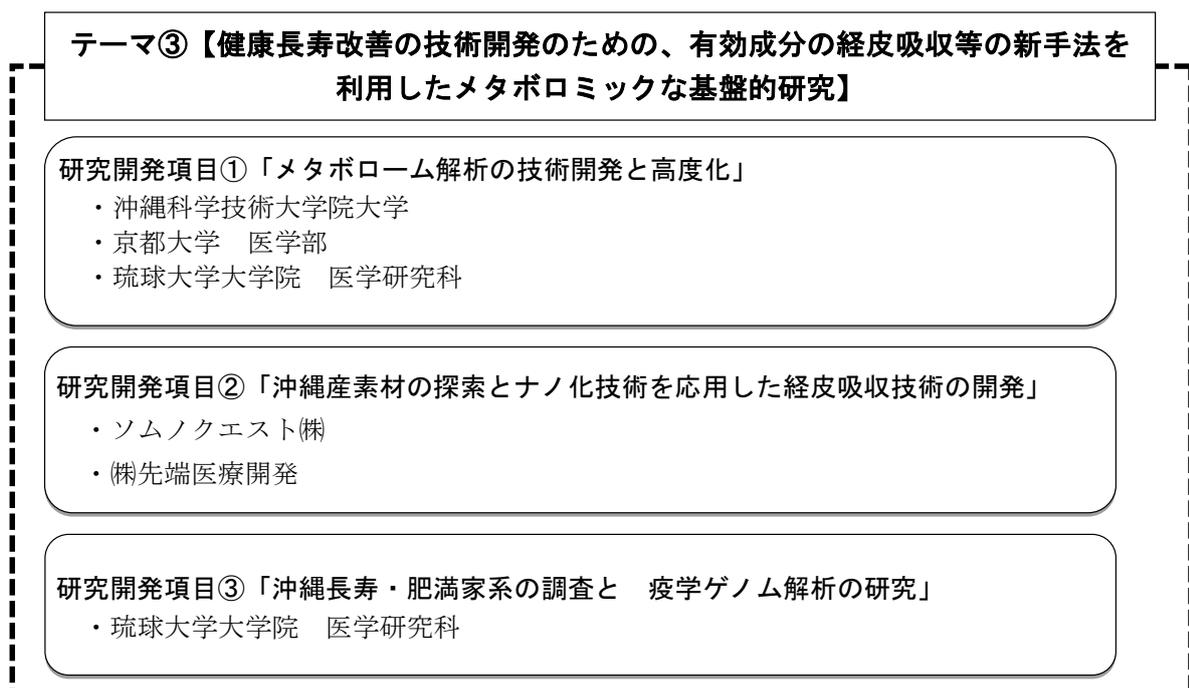
「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」では、オーピーバイオフィクトリー株式会社、金本昭彦研究統括の主導のもとで、5つの研究機関及び企業（オーピー

バイオフィクトリー株式会社、沖縄科学技術大学院大学、琉球大学 理学部、琉球大学 教育学部、東京農工大学大学院) が、2つの研究開発項目について、共同で研究開発を行っている。



研究テーマ③：【健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究】再委託先における研究体制

「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」では、沖縄科学技術大学院大学、柳田充弘研究統括の主導のもとで、5つの研究機関及び企業（沖縄科学技術大学院大学、京都大学、琉球大学大学院、ソムノクエスト株式会社、株式会社先端医療開発）が、3つの研究開発項目について、共同で研究開発を行っている。



(4) 共同研究事業の実施計画

委託期間：平成23年4月1日 から 平成24年3月31日まで

テーマ	項目	平成23年度											
		平成23年										平成24年	
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
研究テーマ①	研究開発項目①「共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究」	→											
	研究開発項目②「未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発」	→											
	研究開発項目③「有用生物資源の利用技術開発と高度化」	→											
	研究開発項目④「先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発」	→											
研究テーマ②	研究開発項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」	→											
	研究開発項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」	→											
研究テーマ③	研究開発項目①「メタボローム解析の技術開発と高度化」	→											
	研究開発項目②「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」	→											
	研究開発項目③「沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析の研究」	→											

3. 共同研究事業の内容

3-1 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」

(1) 研究開発項目

研究テーマ①では、「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」を研究開発課題として掲げ、以下の4つの研究開発項目について研究を行っている。

研究開発項目①「共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究」

研究開発項目②「未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発」

研究開発項目③「有用生物資源の利用技術開発と高度化」

研究開発項目④「先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発」

研究開発項目①「共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究」

地球上には二つ以上の生物が互いに助け合う事により「共生」している生物が数多く存在する。生物の高い多様性を持つ沖縄の海においても、共生を営む生物が数多く見受けられる。沖縄周辺には熱水の噴出域や湧水域があり、このような環境には無脊椎動物と微生物の化学合成共生系が存在している。このように、共生は異なる生物システムが協調・融合する事によって、単一の生物が持ち得ない機能を獲得した新規な生物システムを誕生させる。

これは遺伝子変異の蓄積による段階的な生物進化の枠組みを超えた、まさに進化の飛び道具であると言えることができる。これを人為的に構築・制御する事ができれば、共生を改変して新しい機能（物質合成能力など）の付与などにより新たな機能を有する共生系を作成するような、「共生工学」とも呼べる新たな生物工学の分野を切り開く可能性がある。このような背景から、本研究開発項目では、将来的な共生工学の構築に向け、共生系を成立させているメカニズム、特に宿主と共生体の認識機構や、共生体がどのように宿主の生体防御機構を回避しているか等を、ゲノム情報等を活用する事により明らかにする事を目的としている。

研究開発項目②「未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発」

太古より人類は経験的に発酵食品や薬用植物を利用するなど、生物の持つ有用機能の恩恵を受けてきた。現代においても生理活性物質や有用酵素の生産性など、生物の持つ有用機能を探索する試みが盛んに行われている。しかしながら、実際に利用されているものは地球上の生物のほんの一握りであり、今後も未利用生物資源の探索は重要な研究課題であるといえる。その中でも微生物に限っては、環境中の微生物のほとんどが難培養性である為に未だ利用されていない。培養に依存してきた既存のアプローチでは、培養できない微生物は研究の対象とはなり得なかった。これら共生微生物の中には有用物質の生産が認められているにも関わらず、難培養である為に利用に至っていないものもある。このような微生物を利用する為には、培養化技術の開発と培養を介さずに遺伝子資源を利用する2つの側面からのアプローチが必要であると考えられる。また、これと同時に既存の利用可能な生物資源から有用機能を発掘する為のスクリーニング技術の改変によっても、探索効率を飛躍的に改善できる可能性がある。このような背景において、本研究開発項目では、未利用生物資源を発掘する為のスクリーニング系の開発および最適化を行うと共に、難培養微生物等の未利用生物資源を利用する為の技術開発を行う。

研究開発項目③「有用生物資源の利用技術開発と高度化」

太古より人類は様々な形で生物の持つ有用機能を利用しており、その多くにおいて、利用条件

の最適化や育種を行う事で、より効率的な利用が図られてきた。しかしながら、こうした古典的手法で生物の機能を利用するにはおのずと限界がある。今日、我々は生物の遺伝子情報を読み解く術を得ており、機能性の発現に関わる遺伝子やその制御機構を理解する事で、生物機能を適切な条件で利用し、時には改変する事が可能となっている。シーケンス技術が飛躍的に進歩した現在、ゲノム情報を有効に利用する事により、生物の持つ有用機能を最大限活用できると考えられる。その為には、機能性の発現に関わる遺伝子を特定すると共に、その制御を司る周辺領域の遺伝子構造を把握する必要がある。さらに、こうした遺伝子情報は類似の機能を持つ遺伝子の効率的な新規探索技術の開発をも可能にすると考えられる。このような背景において、本研究開発項目では、ゲノム解析により有用機能の発現に関与する遺伝子とその制御領域を明らかにする事で、効率的な利用技術開発に向けた情報基盤を構築すると共に、効率的な発現システムの構築を目的とした宿主-ベクター系の開発を行う。また、ジャーファーマンター等を用いた物質生産の効率化も併せて検討する。

研究開発項目④「先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発」

近年、シーケンサーの技術開発は急激に加速しており、次々と新規解析機器が開発・実用化され、その応用範囲も飛躍的に拡大しつつある。こうした先端シーケンサーは、これまで主流となっていたキャピラリーシーケンサーに比べて出力が数百倍～数万倍となったため、実質的に不可能であった全ゲノムを対象としたシーケンス解析や発現解析を短期間で行う事ができるようになり、これらの先端シーケンサーとその応用技術の普及は、生命科学全体に大きな変革をもたらすものと期待されている。

先端シーケンサーは、共通して高度に集積した反応系を画像データとして処理する事で、大量同時解析を実現している。しかしながら、各々の解析システムの反応や解析原理が異なり、試料の調製方法や出力されるデータが異なっていること、また、機器が開発されて間もないことなどから、利用技術が成熟しておらず、先端シーケンサーを有効に活用する為には、目的に応じた研究開発をそれぞれ確立していくことが必要不可欠となっている。具体的には、ゲノムライブラリー構築等のウェット研究における技術およびノウハウの高度化、出力される膨大なデータの整列化などのインフォーマティクス技術の開発などが重要であり、本事業では主要な既存次世代（第2世代）シーケンサー（Roche FLX、Solexa、SOLiD）の利用とともに、リード長に優れる第3世代シーケンサーの導入を予定しており、*de novo* シーケンス解析を行う上での強力なツールとして活用する技術を開発する。

本研究開発項目を主に担当する沖縄科学技術振興センターは、他機関との共同研究により、すでに平成20年度から平成22年度にかけて第2世代シーケンサー（SOLiDシステム）の研究基盤構築に関する事業を推進しており、そのなかで第2世代シーケンサーの活用に関する技術基盤の構築及び人材の育成・確保を行っている。本研究では、この基盤及び人材を応用して、各種第2・第3世代シーケンサーを活用し、前述の研究項目①～③の各研究との間でゲノム解析に関して深く連携を持ちつつ、各シーケンサーのもつ特徴を生かした統合的なゲノム解析手法及び、高効率・高精度ゲノム解析技術の開発を行う。

(2) 再委託先における研究機関

再委託先	独立行政法人 海洋研究開発機構
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒127-0061 神奈川県横須賀市夏島町2-1-5 独立行政法人海洋研究開発機構(JAMSTEC) 海洋・極限生命圏領域 海洋生物多様性研究プログラム</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒905-2172 沖縄県名護市字豊原2-2-4-3 独立行政法人海洋研究開発機構 国際海洋環境情報センター(GODAC) TEL : 098-050-0120 / FAX : 098-050-0123</p> <p>〒904-2234 沖縄県うるま市州崎12番2号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-989-0042 / FAX : 098-989-0043</p>

再委託先	沖縄科学技術大学院大学
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒904-0412 沖縄県国頭郡恩納村字谷茶1919 沖縄科学技術大学院大学 TEL: 098-966-8634 / FAX: 098-966-2890</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎12-22 沖縄科学技術研究・交流センター TEL: 098-921-3835 / FAX: 098-921-3836</p>

再委託先	琉球大学 熱帯生物圏研究センター
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒903-0213 沖縄県中頭郡西原町千原1番地 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 分子生命科学研究施設 TEL : 098-895-8972 / FAX : 098-895-8944</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎12番2号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-989-0042 / FAX : 098-989-0043</p>

再委託先	オーピーバイオファクトリー株式会社
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12 番 2 号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-982-1331 / FAX : 098-982-1332</p> <p>(その他の研究実施場所) ・石垣研究所 〒907-0002 沖縄県石垣市真栄里 567-5 TEL : 0980-88-1715 / FAX : 0980-88-1716</p> <p>・沖縄健康バイオテクノロジー研究開発センター 〒904-2234 沖縄県うるま市宇州崎 12 番 75</p>

再委託先	独立行政法人 産業技術総合研究所 (つくばセンター)
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒305-8566 茨城県つくば市東一丁目 1 番地 1 中央第 6 独立行政法人産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 生物システム工学研究グループ TEL : 029-861-6164 / FAX : 029-861-6174</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12 番 2 号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-989-0042 / FAX : 098-989-0043</p>

再委託先	独立行政法人 産業技術総合研究所
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒135-0064 東京都江東区青海 2-4-7 独立行政法人 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター、細胞システム制御解析チーム TEL : 03-3599-8305 / FAX : 03-3599-8494</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12 番 2 号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-989-0042 / FAX : 098-989-0043</p>

再委託先	沖縄県工業技術センター
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所)</p> <p>〒904-2234 沖縄県うるま市洲崎12-2 沖縄県工業技術センター TEL : 098-929-0111 / FAX : 098-929-0115</p> <p>(その他の研究実施場所)</p> <p>〒904-2234 沖縄県うるま市州崎12番2号 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター TEL : 098-989-0042 / FAX : 098-989-0043</p>

3-2 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」

(1) 研究開発項目

研究テーマ②では、「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」を研究開発課題として掲げ、以下の2つの研究開発項目について研究を行っている。

研究開発項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」

研究開発項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」

研究開発項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」

沖縄は四方が海に囲まれた小さな島国であるため、限られた空間で生活を行うのは当然のことながら、廃棄物や有害物質についてもその中で処理しなければならない。このため、揮発性有機塩素化合物、油、PCB など、比較的浄化の難しい有害物質により汚染された土壌の浄化に対する問題は、広大な土地を有する他の地域に比べて、より深刻な課題であると考えられる。

地球環境の維持において微生物群は重要な役割を担っている。人類の活動において汚染された土壌や河川、海洋などの浄化においても、それらを活用した浄化技術であるバイオレメディエーションが最も有効で経済的である。バイオレメディエーションの効果は、存在する微生物群に依存しているため、不安定であり制御が難しいという問題がある。例えば、ポリ乳酸を主成分とする HRC (Hydrogen Releasing Compound) などの水素徐放剤を供給することによる脱塩素化を促進するバイオレメディエーション (バイオスティミュレーション) が揮発性有機塩素化合物で汚染された土壌の浄化方法として実用化されており、一定の成果が得られているが、水素徐放剤の添加は全ての汚染された土壌に有効ではなく、DCE からエテンまで分解を行う細菌が存在しなければ、有害な DCE や VC を生成するだけになってしまうことになる。こういった問題は揮発性有機塩素化合物以外の油や PCB による汚染の浄化でも比較的頻繁に発生しており、バイオレメディエーションによる浄化における大きな問題となっている。

そこで、培養した微生物群を投入して浄化を促進するバイオオーグメンテーション法が期待されている。しかし、浄化に関わる微生物の単離培養が困難であるという問題や、投入した環境中で微生物が安定に生育して増殖しない等の問題がある。単離培養と比較してコンソーシア (微生物群衆) での培養は比較的容易であるが、有効なコンソーシアの構築法が確立していないことや構築されたコンソーシアの安全性の評価が困難である等の問題がある。

本研究開発は、これらの問題点を解決するため、現場に生息する微生物 (原位置微生物) より浄化に有効なコンソーシアを構築し、その投入方法を開発すると共に、コンソーシアの安全性評価手法を開発することを目的としている。対象とする汚染は、揮発性有機塩素化合物、油、PCB などである。これまでの研究で実績のある、揮発性有機塩素化合物で汚染された土壌に関わる浄化を基本的な手法と位置づけ、各種汚染物質をターゲットとする浄化手法の研究を行う。

研究開発項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」

沖縄県の産業の大部分を占めているのが観光業であり、青く透明で美しいサンゴや熱帯魚が生育する海は沖縄観光の魅力の重要な部分を占めている。現在のサンゴ礁はかつての健全なサンゴ礁と比較すれば見る影も無いかもしれないが、現状を保全維持し、かつての状態に修復して行く

努力を積み重ね、沖縄の大切な魅力を未来に残して行かなければならない。サンゴ礁の海の破壊は、さまざまな原因が取りざたされ、多くの研究もなされているが、未知の部分も多く解明されているとはいいがたい。しかしながら、少なくとも、サンゴの生育する沿岸域に対して、人為的な負荷を与える要因はできるだけ排除すべきであろう。

人の生活と営みがある限り、環境に対する何らかの負荷が存在する事は否めない。負荷とは、生活廃水や農業に伴う肥料、農薬、赤土、畜産廃水などの流入であり、有機体や無機体の栄養塩の流入ということになる。

本研究開発項目は、様々な沖縄の産業に伴って生じる廃水を資源としてとらえ、藻類等のバイオマス生産に利用して、環境浄化・修復を行なうとともに、得られたバイオマスから高付加価値な成分やオイル生産を行なおうというものである。

バイオ技術を活用したオイル生産は様々な観点から研究が進んでいるが、今回の研究では、沖縄で採集した生物資源のうち、直接的にオイルや有用物質等を生産する微生物、微細藻類を用いて、廃水（有機物を多く含んだ農業排水や工業廃水など）の浄化を行いながら物質生産を行い、継続的かつ複合的な資源利用の実現を目指している。

微細藻類は従来のバイオマス系のエネルギー生産に比較して単位面積あたりの収量が高く、相対的に生産コストを抑えられるという試算ができる。また、バイオ燃料として多用されているバイオマス系の素材は食料と競合するのに対して、微細藻類を用いたエネルギー生産は食料と競合しないという利点もある。また、微細藻類の研究が進む中、DHA やカロテノイド類、アスタキサンチンなどの有用物質を生産する株の利用が進められている。さらに、微細藻類は、約 10 万種にもおよぶ多様性を有しているといわれており、まだまだ未知の生理活性を有する化合物が多くあるものと考えられている。従って、医薬品や機能性食材の候補物質探索研究ターゲットの宝庫として有望視されている。

本研究を行うことにより、島しょ地域が抱える廃水処理コストの負担軽減に加え、エネルギー生産、そして更に機能性物質生産を行う複合システムの基盤技術を構築する。

(2) 再委託先における研究機関

再委託先	東京農工大学大学院 工学研究院
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12-2 沖縄県工業技術センター内 3階 オープンリサーチセンター (その他の研究実施場所) 〒184-8588 東京都小金井市中町 2-24-16 東京農工大学大学院 工学研究院 養王田研究室

再委託先	オーピーバイオフィクトリー株式会社
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12-2 沖縄県工業技術センター内 3階 オープンリサーチセンター (その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12番 75号 沖縄健康バイオテクノロジー研究開発センター

再委託先	琉球大学 理学部
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒903-0213 沖縄県中頭郡西原町字千原 1 国立大学法人琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 須田研究室 (その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12-2 沖縄県工業技術センター内 オープンリサーチセンター 〒907-0002 沖縄県石垣市真栄里 567-5 オーピーバイオフィクトリー石垣研究所

再委託先	琉球大学 教育学部
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒903-0213 沖縄県中頭郡西原町字千原 1 番地 国立大学法人 琉球大学 教育学部 照屋研究室</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12-2 沖縄県工業技術センター内 3 階 オープンリサーチセンター</p>

再委託先	沖縄科学技術大学院大学
研究実施場所	<p>(主たる研究実施場所) 〒904-0412 沖縄県国頭郡恩納村字谷茶 1919-1 沖縄科学技術大学院大学</p> <p>(その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12-75 OIST テクノロジーセンター・DNA シーケンシング課</p>

3-3 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」

(1) 研究開発項目

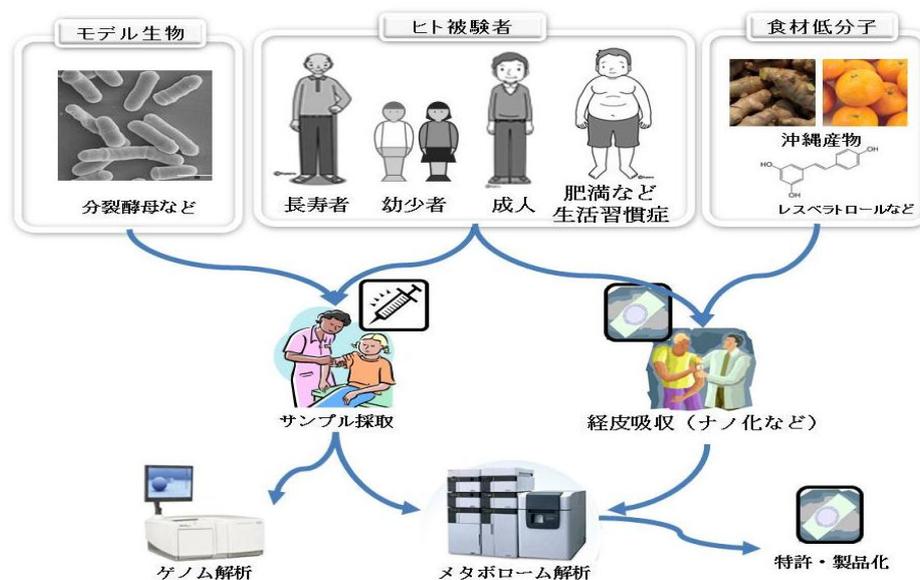
研究テーマ③では、「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」を研究開発課題として掲げ、以下の3つの研究開発項目について研究を行っている。

研究開発項目①「メタボローム解析の技術開発と高度化」

研究開発項目②「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」

研究開発項目③「沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析の研究」

従来、沖縄県は長寿の県として知られてきた。一方で最近、沖縄男性の平均寿命は急速に低下しつつある。原因として急速に西欧化しつつある食生活の変化が考えられる。沖縄県ではメタボリックシンドローム・肥満率は全国1位である。食生活の変化が、肥満や生活習慣病増加とともに沖縄県民の寿命・長寿に影響したとするならば、長寿のカギのひとつは沖縄食材にあったのかもしれない。本事業では、沖縄の文化的遺産でもあり現在もなおかつ維持されている「長寿」という看板イメージを、科学的検証により強力なブランドにまで高めることを目的とし、①「メタボローム解析の技術開発と高度化」、②「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」、③「沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析の研究」を行う。メタボローム解析とは、低分子化合物を質量分析装置により網羅的に計測する最先端技術であり、既知のサプリメントや沖縄産物のヒト被験者の血中吸収効率や、それによる代謝への影響が高感度に検出可能である。ナノ化とは、薬物封入 PLGA ナノ粒子を利用して薬物吸収性の向上、持続的治療効果を得ることができる技術である。沖縄食材のプロファイリングを活用することで沖縄独自の食材からの健康・寿命改善効果のある低分子を見つけ、ナノ化を応用した経皮吸収技術を開発することで製品化を目指す。また、沖縄県に集積している重症肥満家系、重症糖尿病家系および対照家系（長寿家系、痩せ家系など）の代謝学的背景の分析、病態把握、ゲノム解析も行う。



(2) 再委託先における研究機関

再委託先	沖縄科学技術大学院大学
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒904-0412 沖縄県国頭郡恩納村谷茶 1919-1 沖縄科学技術大学院大学

再委託先	京都大学 医学部
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒606-8507 京都大学医学部附属病院老年内科 (京都大学医学部加齢医学講座) 所在地 京都市左京区聖護院川原町 54

再委託先	琉球大学大学院 医学研究科
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒903-0215 沖縄県西原町上原 207 琉球大学 大学院 医学研究科 動物実験施設、共同利用実験施設、 骨髄移植センター 実験施設、内分泌代謝・血液・膠原病内科学講座 (第二 内科) 第1～第3 実験室 (その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市洲崎 12-2 沖縄県工業技術センター 3階 オープンリサーチセンター

再委託先	ソムノクエスト株式会社
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒900-0036 沖縄県那覇市西 1-5-1-601 ソムノクエスト株式会社内 (その他の研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12-2 沖縄県工業技術センター3階 オープンリサーチセンター内

再委託先	株式会社先端医療開発
研究実施場所	(主たる研究実施場所) 〒904-2234 沖縄県うるま市州崎 12-75 株式会社先端医療開発 おきなわ研究所

第2章 事業の内容

1. 研究拠点（オープンリサーチセンター）の整備

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」では、様々な研究者、研究機関、企業との共同研究を介したネットワーク形成を促進し、沖縄県における持続的かつ発展的な研究開発の原動力となる「知的クラスター」の形成を目指している。本事業では、沖縄科学技術大学院大学や琉球大学等の県内研究機関、及び企業等を中核とした研究開発事業を推進する事で、研究交流を促進し、組織間・研究者間のネットワークの構築を図ることを目指し、共同研究事業を推進している。

オープンリサーチセンターでは、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」で推進しているこの様な共同研究事業に資することによって、沖縄県の科学技術振興に寄与する研究開発拠点となるための整備を進めている。

オープンリサーチセンターは、平成 22 年 6 月 16 日（水）に共用を開始し、平成 22 年度では、電気、水道、ガス、通信網、セキュリティー等のライフラインを整備するとともに、事務局居室、会議室等を整備し、運営を開始した。また、安全キャビネット、ドラフトチャンバー、振とう培養機等の研究用基礎備品を導入することによって微生物実験室、細胞実験室、微生物培養室等を整備し、実験室の運営を開始した。更に、生物資源保管用備品の整備、生物資源探索用備品等の汎用備品を導入するとともに、DNA シークエンス用備品の整備を進めた。

平成 23 年度では、本年度より新たに、＜医療・健康＞分野、及び、＜環境・エネルギー＞分野の 2 テーマが採択されたことを踏まえて、実験室の整備を更に進めるとともに、関連する汎用備品の整備を進めた。また、DNA シークエンス用備品についても拡張・整備を進めた。

現在、オープンリサーチセンターでは、＜生物資源の活用＞分野、＜環境・エネルギー＞分野、及び、＜医療・健康＞分野での共同研究事業を担当している、琉球大学をはじめとする 7 研究機関の研究員が当該事業での研究開発を行っている。

(1) 事務局居室、会議室

- ・事務局居室

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12-2 沖縄県工業技術センター 3F

オープンリサーチセンター内

(財) 沖縄科学技術振興センター 知的クラスター形成事業推進室

電話：098-989-0042 / FAX：098-989-0043

HP:<http://www.ostc-okinawa.org/>

(2) 主な実験室の仕様

- ・一般実験室

ドラフトチャンバーを配置し、有機溶媒等の薬品の使用が可能な実験室。

- ・微生物実験室の整備（P2仕様）

安全キャビネット及びオートクレーブを配置するとともに、実験室内の圧力調整が行なわれ、P2 レベルでの実験に対応可能な微生物実験室。

- ・細胞実験室の整備（P2仕様）

安全キャビネット及びオートクレーブを配置するとともに、実験室内の圧力調整が行なわれ、P2 レベルでの実験に対応可能な細胞実験室。

- ・微生物培養室
振とう培養機、試験管培養機、ジャーファーメンターが配置され、培養温度付近での温度管理が可能な恒温実験室。
- ・先端シーケンサー室
次世代シーケンサー等、種々の分析機器が配置され、温度および湿度が管理された分析室。

(3) 主な汎用備品の導入

- ・生物資源保管用備品の整備：県内の海洋生物、海洋性微生物、微細藻類等の生物資源を一元的に保管・管理するために、貯蔵ラック等を導入した。
- ・生物資源単離・精製用備品：スクリーニングにより選択された有用微生物等が生産する活性物質を単離・精製するために、高速液体クロマトグラフィー等の汎用備品を導入した。
- ・DNA シーケンス用備品：未利用生物資源の有用遺伝子に関する情報を取得し、遺伝子情報を利用した生物資源の活用を図るために、新たに、一分子シーケンサーが整備され、ゲノム解析機能の拡張・整備を進めた。

2. 情報発信・連携促進等

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」シンポジウムの開催

(1) - 1 シンポジウムの概要

平成 22 年度より、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業（内閣府補助事業・沖縄県委託事業）」がスタートした。本事業では、平成 22 年度より開始した〈生物資源の活用〉のテーマに加えて、本年度より、新たに、〈環境・エネルギー〉分野、〈医療・健康〉分野の 2 テーマが採択され、研究開発が進められている。本事業では、沖縄県の科学技術振興に寄与する研究開発拠点として「オープンリサーチセンター」を整備し、県内研究機関を中核とした研究開発事業を推進することで、知的・技術的リソースを集結・発展させ、共同研究を介したネットワーク形成を促進し、「知的クラスター」の形成を目指している。

そこで、本事業内容を県内の皆様に広く紹介し、関係者のネットワーク形成の促進を図ることを目的として、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業シンポジウム」を開催した。

シンポジウムでは、〈生物資源の活用〉、〈医療・健康〉、〈環境・エネルギー〉の各分野よりそれぞれ 3 件の口頭講演の他、特別講演では、「沖縄における知的・産業クラスター形成への期待」と題し、日経 BP 社医療局主任編集委員の宮田満氏によるこれまでの経験と実績に基づいた講演が行われた。更に、本年度は特に、ネットワーク形成に向けた交流の機会を持つことを意図して、ポスター発表の場を設けたところ、本事業の研究実施機関より 29 件の他、県内の研究機関および県内外の企業より 10 件の応募があり、合計 39 件のポスター発表が行われた。

シンポジウムは、沖縄県内のみならず、東京、神奈川、大阪、京都等、県外からの参加者も併せて 173 名の参加を得て、盛況のうちに終了した。参加者は、昨年同様、企業関係者の参加が 58 名と多く、本事業に関しては、特に、産業界からの関心が高いことが示された。また、大学関係者では、沖縄科学技術大学院大学、琉球大学などの他、神奈川、大阪からの参加も併せて 52 名の参加があり、企業同様、学からの関心の高さも窺われた。

この様に、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」には、幅広い層からの関心が集まっていることが示された。シンポジウムの様子については、琉球新報、沖縄タイムス紙に掲載され、県民に向けた良い広報となった。

シンポジウムの講演要旨については、「参考資料」に掲載した。

(1) - 2 シンポジウムの内容

1. 開催日時：平成 23 年 12 月 20 日（火）10：15～16：45
2. 開催場所：沖縄産業支援センター 1F ホール（沖縄県那覇市字小緑 1831 番地 1）
3. 主催：財団法人 沖縄科学技術振興センター
後援：沖縄県、学校法人 沖縄科学技術大学院大学学園
4. 参加者：173 名
5. 内 容

10:15 開会

主催者挨拶 (財) 沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
来賓挨拶 沖縄県 企画部 横山 幹生
沖縄科学技術大学院大学 プロボースト・副理事長
ロバート バックマン

10:30 事業概要 事業総括 (財) 沖縄科学技術振興センター 平野 隆

<生物資源の活用> : 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」

10:40 共同研究事業の概要 研究統括 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也

10:50 難培養共生微生物へのゲノムアプローチ
琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也

11:10 未利用真菌のゲノム解析と有用物質生産に関連する遺伝子の解明
(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 小池 英明

11:30 生合成遺伝子を利用した化合物生産技術の開発と天然化合物ライブラリーの構築
(独) 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 新家 一男

11:50 - 13:30 ポスター発表・昼食

12:30 - 13:30 ポスター討論時間

13:30 特別講演：沖縄における知的・産業クラスター形成への期待
日経 BP 社 宮田 満

<医療・健康> : 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の
新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」

14:10 共同研究事業の概要 研究統括 沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘

14:20 ヒト血液メタボローム解析の技術開発と高度化
沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘

14:40 アンチエイジング医療と新しい老化・代謝マーカーの探索
京都大学 医学部 近藤 祥司

15:00 食の嗜好性に関わる新しい脳内メカニズム解明と肥満症に対する医学応用
琉球大学大学院 医学研究科 益崎 裕章

15:20 休憩

<環境・エネルギー> : 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値
産物の生産に関する研究開発」

15:35 共同研究事業の概要 研究統括 オーピーバイオフィクトリー (株) 金本 昭彦

15:45 微細藻類を用いたバイオ燃料生産 (株) デンソー 基礎研究所 藏野 憲秀

16:05 沖縄の海洋藻類に含まれる活性物質の探索 琉球大学 教育学部 照屋 俊明

16:25 次世代 DNA シークエンサーによる揮発性有機塩素化合物分解微生物
コンソーシアの解析とバイオレメディエーションへの利用
京農工大学大学院 工学研究院 養王田 正文

16:45 閉会

(1) - 3 ポスター発表 一覧 (11:50 - 13:30)

<事業の概要>

- P01 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」
事業概要 事業総括 (財) 沖縄科学技術振興センター 平野 隆
- P02 <生物資源の活用> : 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」
共同研究事業の概要
研究統括 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也
- P03 <医療・健康> : 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の
新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」
共同研究事業の概要 研究統括 沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘
- P04 <環境・エネルギー> : 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及び
オイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」
共同研究事業の概要 研究統括 オーピーバイオフィクトリー (株) 金本 昭彦

<生物資源の活用>

- P05 ホヤ類のセルロース合成系の解析
沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミクスユニット
中島 啓介、佐藤 矩行
- P06 OISTでの放線菌ゲノム解析
沖縄科学技術大学院大学 シーケンシングセクション
マリンゲノミクスユニット
藤江 学、宇佐美 剛志、小柳 亮
- P07 深海性二枚貝シロウリガイ類の細胞内共生細菌のゲノム縮小に関する研究
(独) 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域
吉田 尊雄、高木 善弘、島村 繁、丸山 正
- P08 鯨骨生物群集へ共生する微生物のゲノム解析
1. 独立行政法人 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域
2. 沖縄県工業技術センター
3. 沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミクスユニット
高木 善弘¹、津田 美和子¹、照屋 盛実²、吉田 尊雄¹、
島村 繁¹、宮崎 征行¹、佐藤 矩行³、丸山 正¹
- P09 深海環境からの有用酵素資源の探索
1 独立行政法人 海洋研究開発機構、2 東洋大学理工学部
嶋根 康弘¹、峯岸 宏明²、秦田 勇二¹、大田 ゆかり¹、
越後 輝敦²、西 真郎¹、宇佐美 論²、丸山 正¹
- P10 微生物共生系を用いた細胞内共生機構の解明
琉球大学 熱帯生物圏研究センター 荻村 英雄、新里 尚也
- P11 難培養有用微生物の利用技術開発
琉球大学 熱帯生物圏研究センター
砂川春樹、齋藤星耕、長濱秀樹、青山洋昭、新里 尚也

- P12 熱帯樹木のイソプレレン合成と放出の特性
琉球大学 熱帯生物圏研究センター
マングローブ生物学部門・遺伝資源応用分野 屋 宏典
- P13 亜熱帯微生物資源ライブラリーからの有用機能性探索
オーピーバイオファクトリー(株) 金本 昭彦
- P14 沖縄由来の海洋生物および特異環境土壌由来の微生物が持つ二次代謝産物生産能
(有用遺伝子取得法の開発の一環としての微生物および二次代謝産物取得)
(独) 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 新家 一男
- P15 未利用真菌のゲノム解析と有用物質生産に関連する遺伝子の解明
(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 小池 英明
- P16 PHB貯蔵細菌の3HB放出に関与する遺伝子の探索
沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班 / (財) 沖縄科学技術振興センター
照屋 盛実、ウグチャールズ ウチェンナ、常盤 豊、世嘉良 宏斗、
照屋 正映、市場 俊雄 / 下地 真紀子、保 日奈子、照屋 邦子、
佐藤 万仁、小林 靖尚、寺林 靖宣、平野 隆
- P17 5500xlSOLiDシステムのデータ特性と全ゲノム解析
(財) 沖縄科学技術振興センター / 沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
照屋 邦子、佐藤 万仁、下地 真紀子、保 日奈子、小林 靖尚、
寺林 靖宣、平野 隆 / 照屋 盛実
- P18 5500xl SOLiDリードを用いた*de novo*アセンブリ
(財) 沖縄科学技術振興センター / 沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
佐藤 万仁、照屋 邦子、下地 真紀子、保 日奈子、小林 靖尚、
寺林 靖宣、平野 隆 / 照屋 盛実

<医療・健康>

- P19 Metabolomic comparison of human blood and fission yeast as a tool of
longevity research
¹ Graduate School of Biostudies, Kyoto University ²G0 Cell Unit, Okinawa Institute
of Science and Technology Graduate University ³ Department of Geriatric Medicine,
Graduate School of Medicine, Kyoto University
Romanas Chaleckis¹, Tomáš Pluskal², Ebe Masahiro², Hiroshi Kondoh³
and Mitsuhiro Yanagida²
- P20 アンチエイジング医療と新しい老化・代謝マーカーの探索
京都大学 医学部 加齢医学講座 近藤 祥司
- P21 食の嗜好性に関わる新しい脳内メカニズム解明と肥満症に対する医学応用
琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座 (第二内科)
益崎 裕章

<環境・エネルギー>

- P22 次世代シーケンサーを用いたメタン発酵複合微生物群の菌叢解析
¹東京農工大学、²沖縄県工業技術センター、

³トロピカルテクノセンター、⁴沖縄科学技術振興センター

武知 文音¹、北嶋 瑞樹¹、照屋 盛実²、塚原 正俊³、鼠尾 まい子³、
下地 真紀子³、佐藤 友紀⁴、照屋 邦子⁴、宮原 弘子⁴、喜久里 育也⁴、
城間 安紀乃⁴、佐藤 万仁⁴、養王田 正文¹

P23 次世代DNAシーケンサーSOLiD 3を用いた新規*Dehalococcoides*属細菌の発見
と解析

¹東京農工大学、²PaGE Science、³沖縄県工業技術センター、

⁴トロピカルテクノセンター、⁵沖縄科学技術振興センター

坂口 理歩¹、北嶋 瑞樹¹、田村 紀義²、岩本 めぐみ²、照屋 盛実³、塚原 正俊⁴、
鼠尾 まい子⁴、下地 真紀子⁴、佐藤 友紀⁵、照屋 邦子⁵、宮原 弘子⁵、
喜久里 育也⁵、城間 安紀乃⁵、佐藤 万仁⁵、養王田 正文¹

P24 沖縄の沿岸および汽水域からのラビリントウモリ類の収集

琉球大学 理学部 平石 皇志、瀬戸 雄飛、Faria, D. G.、須田 彰一郎

P25 沖縄のガードレール着生陸生藻類について

琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 大庭 章裕、須田 彰一郎

P26 沖縄の陸生ラン藻類の収集

琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 澄本 慎平、須田 彰一郎

P27 那覇市国場川におけるラビリントウモリ類について

琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 瀬戸 雄飛、須田 彰一郎

P28 沖縄の海洋藻類に含まれる活性物質の探索

琉球大学 教育学部 照屋 俊明

P29 インシュリン分泌を惹起するGLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 分泌促進活性
を持つ天然物のスクリーニング

ファルマフロンティア株式会社 秋山 清隆

オーピーバイオフィクトリー株式会社 金本 昭彦

<ネットワークの形成>

P30 次世代シーケンサを用いた、発達遅滞を伴う小眼球症の原因遺伝子変異特定と
診断システムの確立

琉球大学大学院 医学研究科 遺伝医学講座 要 匡、柳 久美子、成富 研二

P31 生産力向上を目指したパパイアとニガウリのゲノム解析

沖縄県農業研究センター 浦崎 直也

P32 ミトコンドリアDNA非コード領域における琉球在来豚アグーの母系解析

沖縄県畜産研究センター、¹⁾独立行政法人農業生物資源研究所、

²⁾(社)農林水産先端技術産業振興センター 農林水産先端技術研究所

當眞 嗣平、島袋 宏俊、美川 智¹⁾、奥村 直彦²⁾

P33 ミッドカイン(MK)を指標とした抗腫瘍活性スクリーニング

～海洋天然物ライブラリを用いて～

沖縄工業高等専門学校 専攻科創造システム工学専攻 生物資源工学コース

祖納元りえ、山城 知佳、高石 花蓮、池松 真也

オーピーバイオフィクトリー株式会社 藤原 健史、石見 盛太、金本 昭彦

- P34 次世代シーケンサーを利用したミッドカインファミリーの発現解析
～次世代シーケンサーの優位性～
¹ 沖縄工業高等専門学校 生物資源工学科、
² 名古屋大学大学院 医学系研究科 生物化学講座、³ 千葉県がんセンター
天久 隆貴¹、喜屋武 竜一¹、坪田 庄真²、岸田 聡²、中川原 章³、
門松 健治²、池松 真也¹
- P35 半導体技術による高速次世代シーケンサ、イオントレント PGM の運用例
& ポテンシャル
ライフテクノロジーズジャパン株式会社 平良 光、戸崎 浩和
- P36 「美ら島スマートサイクル社会（自律持続可能な島嶼エネルギー環境社会）」
構築に関する研究
国立大学法人 琉球大学 工学部 瀬名波 出
国立大学法人 琉球大学 農学部 小西 照子
沖縄科学技術大学院大学 神経計算ユニット 銅谷 賢治
- P37 *Jatropha* 種子の搾油技術及び利用技術（発電機、重機）の実施内容
(株) 沖縄エネテック エネルギー開発部
比嘉 直人、古木 聡、具志堅 和代
- P38 沖縄生物資源由来アルツハイマー病治療薬のシーズ探索研究
株式会社ファルマエイト
川上 博哉、照屋 貴之、辻子 嘉津、奥田 充顕、吉國 義明、杉本 八郎
- P39 沖縄県人間ドック受診者における肥満および糖尿病と関連遺伝子多型に関する
断面研究
¹ 株式会社ハプロファーマ、² 琉球大学 保健管理センター、³ 東京大学 駒場
オープンラボラトリー、⁴ 琉球大学大学院 医学研究科 循環器・腎臓・神経
内科学講座、⁵ 琉球大学 熱帯生物圏研究センター
花城 薫¹、崎間 敦²、森谷 哲浩¹、顔 瑾¹、辻 慎吾^{1,3}、吉田 安彦¹、
喜屋武 麻美¹、岩本 恭典¹、大屋 祐輔⁴、長嶺 勝⁵、根本 靖久¹

(2) 「沖縄ゲノムサイエンス講演会」の開催

(2) - 1 セミナーの概要

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」に関連して、情報発信および研究者のネットワークの形成を目的として、沖縄ゲノムサイエンス講演会「OISTでのゲノムシーケンスの現状—次世代シーケンサーの技術的課題とその克服—」を開催した。

セミナーでは、国内の諸研究機関に先駆けて次世代シーケンサーを導入し、専門部署であるDNAシーケンシング課を含むテクノロジー・センターを設立し、最先端ゲノム研究の拠点にするべく研究活動を行っている独立行政法人沖縄科学技術研究基盤整備機構（現：沖縄科学技術大学院大学）テクノロジー・センター DNAシーケンシング課の藤江学博士を招き、県内の大学関係者・企業関係者、(独)沖縄科学技術研究基盤整備機構（現：沖縄科学技術大学院大学）、沖縄ゲノム研究推進協議会会員等に呼びかけ、セミナーを行った。

講演では、現在普及している次世代シーケンサーの特徴を踏まえ、実際の現場で直面した技術的課題からその克服まで、分かり易く紹介して頂いた。更に、ミドリイシ属サンゴの一種、キュビミドリイシの全ゲノム解読や沖縄県の生物資源のポテンシャルを活かし沖縄県の発展に寄与するための微生物ゲノム解読を行うなど、現在取り組んでいる最先端技術について紹介を頂いた。

当日は、県内で次世代シーケンサーを稼働させている研究機関の方々をはじめ、県内企業の方を含む38名の参加者を得て、質疑応答も活発に行われた。

(2) - 2 セミナーの内容

「OISTでのゲノムシーケンスの現状—次世代シーケンサーの技術的課題とその克服—」

1. 開催日時：平成23年9月9日（金）14：00～15：00
2. 開催場所：沖縄健康バイオテクノロジー研究開発センター 2F 研修室
(沖縄県うるま市州崎12-75)
3. 主催：財団法人 沖縄科学技術振興センター
後援：知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業、
(独)沖縄科学技術研究基盤整備機構（現：沖縄科学技術大学院大学）
協力：沖縄ゲノム研究推進協議会
4. 参加者：38名
5. 内 容

「OISTでのゲノムシーケンスの現状—次世代シーケンサーの技術的課題とその克服—」

(独)沖縄科学技術研究基盤整備機構（現：沖縄科学技術大学院大学）
テクノロジー・センター DNAシーケンシング課

藤江 学

(3) 「沖縄バイオサイエンスセミナー」の開催

(3) - 1 セミナーの概要

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」に関連して、情報発信および研究者のネットワークの形成を目的として、「沖縄バイオサイエンスセミナー」を開催した。

セミナーには、(独) 産業技術総合研究所の横地俊弘博士、および、広島大学の秋庸裕博士を招き、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」実施研究機関をはじめ、県内の大学関係者・企業関係者、沖縄ゲノム研究推進協議会会員等に呼びかけて行った。

横地俊弘博士は、「微生物オイル生産の可能性と展望」と題して、バイオマス利活用技術のひとつとしての油脂生産微生物に関連して、従属栄養微生物～モルティエセラ属糸状菌やシゾキトリウム属海洋微生物(従属栄養藻類)の高密度培養～油脂生産に関するこれまでの研究成果、及び、高付加価値製品への変換の可能性について紹介頂いた。

また、秋庸裕博士は、「ラビリンチュラ類(オーランチオキトリウム属)による高機能性油脂の生産」と題して、ヒトにおいて多彩な生理作用を示すドコサヘキサエン酸(DHA)、アスタキサンチン、スクアレンなどの機能性脂質を生産蓄積する海洋性真核微生物、ラビリンチュラ類オーランチオキトリウム属の微生物について、産業廃棄物を用いた脂質の生産性向上、藻体の種苗生産への利用、ユニークな脂質構造を利用した油脂ゲル化剤の開発、さらに、脂質生成に関する分子育種等のこれまでの研究成果の他、エネルギー生産や脂質生成遺伝子の植物での発現など、最近のラビリンチュラ研究の世界的なトレンドについて幅広く紹介頂いた。

当日は、環境・エネルギー分野の研究実施機関をはじめ、県内の大学・研究機関の方々、県内企業の方々、併せて42名の参加者を得て、質疑応答も活発に行われた。

(3) - 2 セミナーの内容

1. 開催日時：平成23年11月11日(金) 15:00～17:00
2. 開催場所：沖縄県工業技術センター 2F 研修室(沖縄県うるま市州崎12-2)
3. 主催：財団法人 沖縄科学技術振興センター
後援：知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業
協力：沖縄ゲノム研究推進協議会
4. 参加者：42名
5. 内 容

15:00 - 16:00 微生物オイル生産の可能性と展望

(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門
イノベーション推進本部 イノベーションコーディネータ
横地 俊弘

16:00 - 17:00 ラビリンチュラ類(オーランチオキトリウム属)による高機能性油脂の生産

広島大学大学院 先端物質科学研究科 准教授 秋 庸裕

(4) 「沖縄バイオサイエンスセミナー」の開催

(4) - 1 セミナーの概要

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」に関連して、情報発信および研究者のネットワークの形成を目的として、「沖縄バイオサイエンスセミナー」を開催した。

セミナーには、城西大学薬学部長・教授の杉林堅次先生、および、東京大学大学院医学系研究科の徳永勝士先生を招き、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」実施研究機関をはじめ、県内の大学関係者・企業関係者等に呼びかけて行った。

杉林堅次先生は、「皮膚を介する化学物質の浸透・吸収とその促進・制御法」と題して、薬物、化粧品、栄養物質などの適用部位である皮膚を介する化学物質の浸透・吸収メカニズムとその促進・制御を目的とした化学的方法と物理的方法について紹介頂いた。

皮膚を介して化学物質を浸透・吸収させる場合、角層のバリア機能の理解が大変重要であり、難吸収性の化学物質の皮膚浸透を期待する場合は、角層バリアの修飾のみならず、毛嚢などの皮膚付属器官の構造や機能の理解も必要である。「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」で出口となる製品を開発する上で、大いに参考になった。

また、徳永勝士先生は、「疾患関連遺伝子のゲノムワイド探索：現状と課題」と題して、2型糖尿病、肝炎、ナルコレプシーなど各種疾患について最近の研究成果を紹介頂いた。これらの成果は、発症機序の解明や新規治療標的の同定、さらに疾患概念の再構築や個の医療の実現にも貢献することを示されるとともに、パーソナルゲノム解析時代における課題について考察頂いた。ディスカッションでは、C型肝炎の治療応答性に関する研究では、質の高い臨床情報に基づいたDNA試料を調製し、解析することでこの様な成果をもたらしたということであった。

当日は、医療・健康分野の事業実施機関をはじめ、県内企業の方を含め、45名の参加者を得て、質疑応答も活発に行われた。

(4) - 2 セミナーの内容

1. 開催日時：平成24年3月1日（木）13：00～16：00
2. 開催場所：沖縄県工業技術センター 2F 研修室（沖縄県うるま市州崎12-2）
3. 主催：財団法人 沖縄科学技術振興センター
後援：知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業
協力：沖縄ゲノム研究推進協議会
4. 参加者：45名
5. 内 容

13:00 - 14:15 「皮膚を介する化学物質の浸透・吸収とその促進・制御法」
城西大学 薬学部長、薬学部 薬科学科 化粧品動態制御学
教授 杉林 堅次

14:15 - 15:30 「疾患関連遺伝子のゲノムワイド探索：現状と課題」
東京大学大学院 医学系研究科 人類遺伝学分野 教授 徳永 勝士

15:30 - 16:00 フリーディスカッション

3. 共同研究事業の推進

本事業では、沖縄の生物資源の利活用に資する具体的な研究開発課題として、「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」を研究テーマとして、以下の4つの研究開発項目について共同研究を行っている。各研究開発項目における平成23年度研究成果の概要、及び研究成果の詳細について、以下に示す。

3-1 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」

研究開発項目①：共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究

- ①-1 「海産無脊椎動物に見られる共生機構の解明」 ((独)海洋研究開発機構)
- ①-2 「微生物共生系を用いた細胞内共生機構の解明」
(琉球大学 熱帯生物圏研究センター)

研究開発項目②：未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発

- ②-1 「未利用有用生物資源の探索」
 - ②-1-1 「亜熱帯微生物資源ライブラリーからの有用機能性探索」
(オーピーバイオフィクトリー株 / 沖縄県工業技術センター)
 - ②-1-2 「深海を含む海洋環境からの有用酵素資源の探索」 ((独)海洋研究開発機構)
 - ②-1-3 「未利用真菌が生産する抗真菌化合物のスクリーニング解析」
(独)産業技術総合研究所)
- ②-2 「有用生物資源の探索技術開発」
 - ②-2-1 「新規微生物資源探索技術開発」 (琉球大学 熱帯生物圏研究センター)
 - ②-2-2 「新規生合成遺伝子探索技術開発」 (独)産業技術総合研究所)

研究開発項目③：有用生物資源の利用技術開発と高度化

- ③-1 「有用機能の発現に関わる遺伝子の解析」
 - ③-1-1 「ホヤ類のセルロース合成系の解析」 (沖縄科学技術大学院大学)
 - ③-1-2 「高温耐性に寄与するイソプレレン合成遺伝子の構造と制御機構の解析」
(琉球大学 熱帯生物圏研究センター)
 - ③-1-3 「未利用真菌の有用物質生産に関連する遺伝子の解析」
(独)産業技術総合研究所)
- ③-2 「効率的な有用物質生産を目指した生産技術の高度化」
 - ③-2-1 「有用物質の生産性向上に向けた培養条件の検討」
(オーピーバイオフィクトリー株)
 - ③-2-2 「生合成遺伝子異種発現技術の開発と天然化合物ライブラリーの構築」
(独)産業技術総合研究所)

研究開発項目④：先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発

- ④-1 「先端シーケンサーを活用したゲノム情報の高精度・高速解析技術の開発」
(沖縄県工業技術センター / (財)沖縄科学技術振興センター)
- ④-2 「先端シーケンサーのデータを有効活用するアプリケーションの開発」
(沖縄県工業技術センター / (財)沖縄科学技術振興センター)

(1) 研究成果の概要

研究開発項目①：共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究

①-1 「海産無脊椎動物に見られる共生機構の解明」

(独)海洋研究開発機構

1. 目的

海産無脊椎動物と微生物（オルガネラを含む）との共生を利用するための技術、共生工学、を開発する基礎固めとして、共生機構を研究する。

2. 3年間の全体計画

3年間で、深海の共生系から共生菌のゲノム解析による、共生菌のゲノム進化の様子を研究すると同時に、宿主の遺伝子発現を解析し、共生者と宿主の共生機構解明の基礎情報を得る。これらに加えて、後鰓類ウミウシによる葉緑体保持（盗葉緑体）機構を解析するため、宿主遺伝子発現の解析および葉緑体ゲノムの解析を行い、葉緑体保持機構を研究する基礎を固める。また、共生機構にかかわる因子を探索するためのモノクローナル抗体の作成系を構築する。

3. 平成23年度研究成果

深海化学合成共生系のシロウリガイ共生菌のゲノム進化機構を解明するため、昨年度明らかにしたシマイシロウリガイ個体内の共生菌集団中の共生菌ゲノムの配列の多様性がタンパク質レベルでの多様性に反映されているか解析した。その結果、いくつかのタンパク質の発現を確認した。現在詳細な解析をしている。また、11種類のシロウリガイ類で遺伝子修復酵素の欠失とゲノム縮小進化の関係を明らかにするために *recA* 遺伝子と *mutY* 遺伝子を検索し、遺伝子の欠失とゲノムの変化の対応がありそうだとすることを論文として発表した(Kuwahara et al 2011)。

深海鯨骨生物群集を構成する、ホネクイハナムシの共生菌と考えられている単離細菌 *Neptunomonas japonica* strain JAMM1380 および *Amphritea japonica* strain JAMM1866T のゲノム解析を OIST や沖縄県工業技術センターとの協力で終了した。ゲノムサイズは前者が 4,095,472bp 後者は 3,833,047bp で、GC 含量はそれぞれ 43.7%および 47.5%，タンパク質をコードする遺伝子数はそれぞれ 3,801 および 3,415 であった。

共生にかかわる因子を解析するためにモノクローナル抗体作成系を構築し、共生菌を有する鰓細胞特異的な抗原を認識する抗体などの候補を得た。

葉緑体保持を行うウミウシのチドリミドリガイについては、アミノ酸の同位体比を用いた栄養段階（生態学で生産者（栄養段階1）や消費者（一次消費者は栄養段階2）などの食物連鎖のレベルを決める概念で、定量的に測定可能である）を決定したところ、野外個体では 1.9、室内で 156 日絶食させると 1.3 となり、葉緑体に依存してアミノ酸合成を行い、植物に近い栄養段階を示すことが明らかとなったことから、その両者でメタボロミクス解析を試みた。

4. 考察（今後の課題と展望等）

シロウリガイの共生菌のゲノムと発現タンパク質の多様性は変異した遺伝子が発現している様子がとらえられそうなので、今後詳細に解析する予定である。これらの変異の詳細な解析を行うことで、共生菌ゲノム縮小進化の詳細なプロセスが分かってくると期待される。ゲノムの縮小進化には DNA の修復や組み換え遺伝子が失われることが、その後のプロセスに受容である可能性が示され、今後のゲノム解析により、その影響をより明確に出来ると思われる。また、モノクロー

ナル抗体の作成により、共生特異的なタンパク質などを検出できるようになると期待される。

チドリミドリガイでは、飢餓状態では盗葉緑体が藻類など生産者のような働きをしていることが明らかになった。

①-2 「微生物共生系を用いた細胞内共生機構の解明」

琉球大学 熱帯生物圏研究センター

1. 目的

「細胞内共生」は異なる生物を細胞内に住まわせて共生関係を確立する現象であり、生物進化を飛躍的に促進する重要な現象であると考えられているが、その成立要因や共生関係成立後の具体的な進化の過程については不明な点が多い。本研究開発項目は、遺伝的に均一なクローンとして維持している、世界的に見ても珍しいアーキアとバクテリアの二つの共生体を細胞内に維持するトリミエマ原虫を細胞内共生研究のモデル系として、共生の成立・維持機構に関する知見を得る事を目的としている。

2. 3年間の全体計画

事業期間内において、トリミエマ原虫共生系を細胞内共生研究のモデル系として確立する為の基礎的知見の収集を行う。具体的には、トリミエマ原虫の凍結保存法の検討を行って、モデル共生系として安定的に保存できる技術開発を行う。また、共生微生物については、16S rRNA 遺伝子による系統解析と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションによる共生体の宿主内での局在性に関する情報を取得する。その一方で、共生体が宿主外でも生育可能であるか、培養条件の検討を行うとともに、single cell マニピュレーションとゲノム増幅技術を用いて共生体のゲノム情報の解読を試みる。

3. 平成23年度研究成果

本年度は主に2種の共生体の宿主内での機能推定と、長期保存するための凍結保存法の検討を行った。共生体の機能については、それぞれの共生体を欠失した株を作出し、宿主の生育特性や代謝産物への影響を見ることで評価した。第1の共生体であるメタン生成菌 TS1 については、継代培養の過程でメタン生成菌を欠失した株 (2N 株) を用い、第2の共生体である TC1 については、抗生物質を作用させることで共生体を除去した株 (S10C 株) を用いた。その結果、TS1 の欠失は宿主トリミエマの最大細胞密度を20%程度押し下げるのみであったが、代謝産物の有機酸組成は酪酸生成が顕著に増大した。これはメタン生成菌が水素スカベンジャーとして機能していることを示すものであった。一方の TC1 は欠失により宿主の生育を著しく制限し、これは共生体が供給している可能性が考えられるステロールの添加でも回復しなかった。このことは TC1 が宿主の活発な生育に必須な未知の役割を担っていることを示唆していた。この他、凍結保存における条件検討の結果、DMSO やプロピレングリコールが保護剤として適していることを見出した。

4. 考察 (今後の課題と展望等)

本年度はトリミエマ原虫共生体の選択的除去の条件を検討し、それぞれの共生体欠失株の生育特性等の評価から、共生体の機能について予備的な知見を得ることが出来た。しかしながら、真正細菌共生体 (TC1) 等については明確な機能推定が困難であったことから、ゲノム解析等からのアプローチが必要であると考えられた。本報告では触れなかったが、今年度は共生体のゲノム解析にも着手している。現在、コンティグ数の収束が進んでいないことから、来年度にかけて試料調製の段階から新たな方法を検討する予定である。

研究開発項目②：未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発

②-1 「未利用有用生物資源の探索」

②-1-1 「亜熱帯生物資源ライブラリーからの有用機能性探索（1）」

オーピーバイオフィクトリー(株)

1. 目的

本研究は、沖縄県内に分散している生物資源をオープンリサーチセンター（以下 ORC）に集結させ、共通フォーマットでスクリーニングできる体制を構築し、産業活用の可能性があるマクロ生物資源や微生物代謝産物の機能性探索を行える基盤構築を行い、更に機能性評価を開始することを目的とする。

2. 3年間の全体計画

沖縄県は平成 18 年から 22 年度までの事業において、土壌細菌、乳酸菌、酵母等を収集してその機能性などの基本性状をデータベース化し、亜熱帯微生物ライブラリーを構築した。沖縄県工業技術センターは、薬草をはじめとする生物資源ライブラリーを保有する。オーピーバイオフィクトリー株式会社は、海洋生物、海洋微生物、微細藻類からなる生物資源ライブラリーを保有する。これらの沖縄県内に分散した生物資源を ORC に集結させ、導入予定である保存システムにて管理し、沖縄の資産として保存すると共に、目的に応じて容易に利用できるように管理する。集結した生物資源に有用な生物資源が含まれていない場合は、新たな収集、選別を行う。創薬、化粧品、食品、化学、環境、エネルギーなどの分野のシーズ探索に容易に利用できるように、これらの生物資源の抽出物及び化合物のライブラリーを構築し、同様に保存システムで管理する。さらに、生理活性物質探索のためのスクリーニングを実施できる環境を整備する。これらの生物資源及び整備された環境を用いて、共同研究ベースでシーズ探索を行うことができる ORC の整備を目指す。ORC 保有生物資源から有用な資源を発見した場合、ゲノムライブラリーの作製や全ゲノム解析を行って、有用機能ならびに有用物質の生産に関与する遺伝子の特定と機能解析を実施する。

3. 平成 23 年度研究成果

本年度は、これまでに ORC に集結した沖縄県内機関保有リソースを利用すると共に、新たに収集した微生物資源も用いて、多剤耐性菌に有効な抗生物質の探索を実施した。評価系は、ヒトへの毒性が低い事が予測され、MRSA や VRE に有効で、新たに発見された作用機序である Walk/WalR（ツーコンポーネントシステム）をターゲットにスクリーニングを実施した。

まず、新規収集株として海水・汽水域から多数の分離源を収集し、新鮮な分離源から多様な微生物株を迅速に分離・評価する体制を整えた。ハイスループット化したスクリーニング手法により 22 万株を評価し、Walk/WalR 阻害を示す株 13 株（糸状菌 9 株、放線菌 4 株）を得た。得られた 13 株は、さらにゲノム塩基配列解析により種の同定を実施した。また、それら 13 株の培養条件を検討し、至適培養条件にて大量培養を行い、活性成分の精製・構造決定を行った。また、産総研の協力の下、少量でも迅速に構造解析できる研究体制を築き、13 株のうち 10 株の活性化化合物の構造を決定した。得られた化合物の中に新規化合物も存在しており、現在、新規化合物の大量取得および残りの選抜株の構造解析を継続している。得られた活性化化合物は、抗菌スペクトル・細胞毒性評価により有効性・選択性を確認すると共に、新規リード化合物としての可能性を検討した。検討した結果、MRSA に有効かつ細胞毒性が弱い化合物が得られており、現在、類縁体との活性比較や近畿大学において、さらなる作用メカニズムの検討を進めている。有効な結果

が得られた場合は、特許や学術文献誌に投稿を行う予定である。また、医薬リード化合物生産の候補株が得られた場合、OIST（沖縄科学技術大学院大学）と共同し、ゲノム塩基配列解析や二次代謝関連遺伝子の解析を進める体制を整えており、関連遺伝子の高発現化ならびに化合物生産性向上を図る。

4. 考察（今後の課題と展望等）

沖縄周辺から多数の海洋性分離源を収集する方法を沖縄に存在する各漁業協同組合との連携の下、確立した。確立した連携を十分に活用して海洋性の分離源を多数収集し、新鮮な状態の下で多数の微生物の分離法を確立した。得られた多数の分離源を分離する微生物の特徴に適した分離培地にて分離し、その結果多種類の微生物の分離に成功した。得られた微生物を多剤耐性菌に有効な特徴的な評価方法を用いて評価し、新たな抗菌作用機作を示す化合物を多数分離する事に成功した。

今後は本年度のスクリーニングで得られた新規化合物の大量取得及び化合物の抗菌スペクトルや細胞毒性を明らかにし、活性成分の構造が得られていない化合物の構造解析を進める。MRSAに有効かつ毒性が低い化合物については、類縁体との活性比較やさらなる作用メカニズムの検討を行い、有効な結果が得られた場合は、特許や学術文献誌に投稿する。医薬リードの候補株が得られた場合、OISTとの連携によりゲノム塩基配列解析や二次代謝関連遺伝子の特定を行い、関連遺伝子の高発現化ならびに化合物生産能の向上を図る。また、新たにスクリーニング評価系を導入し、更なる新規抗生物質の探索を行う。

②-1 「未利用有用生物資源の探索」

②-1-1 「亜熱帯微生物資源ライブラリーからの有用機能性探索（2）」

沖縄県工業技術センター

1. 目的

本研究開発項目では、沖縄県に分散している生物資源をオープンリサーチセンター（以下 ORC）に集約し、共通フォーマットでスクリーニングできる体制を構築し、産業活用の可能性があるマクロ生物資源や微生物代謝産物の機能性探索を行える基盤構築を行い、更に機能性評価を開始することを目的としている。

工業技術センターでは、薬草をはじめとする県産生物資源ライブラリー、発酵飲食品製造に関わる麹菌、酢酸菌などの醸造微生物ライブラリー、および乳酸菌など有機酸生産微生物ライブラリーを有しているため、本事業では有機酸生産微生物ライブラリーを用い有用性評価を実施し、産業活用の可能性の高い微生物資源の探索とその科学的研究を行う。

2. 3年間の全体計画

工業技術センターでは、薬草をはじめとする生物資源ライブラリーを保有しており、オーピーバイオファクトリー株式会社では、海洋生物、海洋微生物（放線菌、糸状菌、乳酸菌、酵母）、微細藻類から構成される生物資源ライブラリーを構築、保有している。これらのリソースを用いて、創薬、化粧品、食品、化学、環境・エネルギー関連のシーズ探索で、用途毎に抽出物ライブラリー及び化合物ライブラリーを構築しシーズ探索を行える環境を整備して、抗生物質、抗カビ物質、生理活性物質探索の為にパネルスクリーニングを実施して、リソースの持つ可能性を評価する。構築された環境、リソースを用いて、共同研究によりシーズ探索を行うことができる ORC を目指す。更に有用生物資源が見つかった場合、全ゲノム解析を行って、有用機能ならびに有用物質の生産に関与する遺伝子の特定と機能解析を実施する。

3. 平成23年度研究成果

今年度は 3HB（3-ヒドロキシ酪酸）に焦点をあて、紫外線照射変異誘導により 3HB 生産能を得た *Cupriavidus necator* M31 株と、原株で 3HB 非生産性の JCM11282 株のゲノム比較を行い、3HB 生産に関与する遺伝子の探索を行った。

その結果、M31 株にのみ存在する遺伝子上の塩基置換が 8 サイトに認められ、コードするタンパク質の機能からある 1 サイトの置換が 3HB 生産に関与していると考えられた。

4. 考察（今後の課題と展望等）

全ゲノムを対象とした比較を行うことで個々の遺伝子を比較するよりも迅速に標的遺伝子を探索できることが確認できた。今後、異なる表現型をもつ菌株のゲノムを比較していくことで物質生産に関する更なる知見が得られ、工業的生産に向けたエンジニアリングに有用な情報が蓄積できるものと考えられる。

②-1 「未利用有用生物資源の探索」

②-1-2 「深海を含む海洋環境からの有用酵素資源の探索」

(独)海洋研究開発機構

1. 目的

石油化学から脱却しグリーンイノベーションを実現するために、来るべき酵素化学工業（酵素を触媒にいろいろなものを作るような工業）で使えるような各種酵素を海洋から探索する方法を検討する。

2. 3年間の全体計画

海洋の微生物からユニークで有用酵素のソースになりえると思われる細菌あるいは古細菌を単離し、そのゲノム解析を行うことで、酵素遺伝子を探索し、その有用性を研究し、有用性が認められた酵素についてはその発現系を検討する。

3. 平成23年度研究成果

新規な好塩古細菌 *Halococcus* sp. 197A を見出し、アガラーゼを探索したところ、至適温度が70度と非常に高く耐熱性のアガロースを生産していた。この酵素はガラクトースとアンヒドロガラクトースの間のβ1,4結合を切断するβアガラーゼで、4糖から成るネオアガロオリゴ糖を主成分として生成する酵素であることが明らかとなった。

4. 考察（今後の課題と展望等）

新規な好塩古細菌を見出し、今までに知られていなかった、耐熱性が高く、高温で働くアガラーゼを生産していることが判明した。このアガラーゼを利用することで、アガロースから新規のオリゴ糖を生産することが可能になり、その生理作用を研究する可能性が示された。

②-1 「未利用有用生物資源の探索」

②-1-3 「未利用真菌が生産する抗真菌化合物のスクリーニング解析」

(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門

1. 目的

本研究は、今まで利用されていない(Ⅱ)熱帯性由来の真菌が生産する化合物から、抗真菌剤など新規の有用物質をスクリーニングする系をゲノム科学により効率化することを目指す。

2. 3年間の全体計画

(Ⅱ)熱帯性由来の真菌の培養上清などから、麴菌などに対する生育阻害を指標にしたバイオアッセイにより、抗真菌性を示す化合物を生産する株とその培養条件を明らかにするとともに、麴菌のゲノム科学を応用して、それら化合物の作用機作を明らかにする。

担当研究機関は、麴菌のゲノム科学を利用して、抗真菌剤を中心とした化合物探索に関する独自のスクリーニング系を構築している。麴菌の生育を阻害する化合物は抗真菌剤として有用性が高い。したがって未利用真菌の代謝物の中から、麴菌の株に対して生育を阻害する化合物をスクリーニングするとともに、その化合物を生産する真菌の生育条件を詳細に解析する。

さらに、麴菌のゲノム科学を応用して、抗真菌化合物の作用機作の解明を目指す。現在までに多数の標準薬剤に対する麴菌の遺伝子発現を DNA マイクロアレイで測定し、全遺伝子の応答をデータベース化した。スクリーニングした化合物への麴菌の遺伝子発現の応答性を、次世代シーケンサーなどで見ることにより、その化合物の抗真菌における作用する点をより詳細に推定することを目標とする。

並行して、真菌の培養上清および細胞内に含まれる化合物群を質量分析などにより分析し、含まれる化合物の化学構造を解析する。バイオアッセイと低分子性化合物の分析との結果を総合して、新規性の高い化合物を得られることを目標とする。

3. 平成23年度研究成果

入手した真菌の代謝物から、麴菌の生育阻害を観察するスクリーニング系を用いて、新たな作用点を持つと期待される抗真菌剤をスクリーニングした。麴菌の生育を阻害する代謝物が10程度得られ、これら生理活性をもつ代謝物の培養条件の特徴を調べた結果、固体培養から得られる培養抽出液で活性が高いことが判明した。

この結果を基に、第二次のスクリーニングを、沖縄由来の糸状菌を対象とし、固体培養からの抽出物に限定して行った。新規に190の検体をスクリーニングした結果、麴菌の生育を60%以下に阻害するものが12検体(6.3%)、80%以下に阻害するものが21検体(11.1%)あることが判明した。一次および二次のスクリーニング結果の中から、属名や採集場所などの情報を基に、新規の代謝物を作る可能性が高い糸状菌9種を選定しゲノム塩基配列の決定を進めている。

培養液を有機溶媒で抽出した画分をLC-MSを用いて二次元で展開して調べた。その結果、液体培養と固体培養では、作られている化合物のプロファイルが一見して異なっており、代謝の様相が異なることが判明した。

4. 考察(今後の課題と展望等)

麴菌の生育阻害作用を示し、新規の化合物を生産すると期待される9種を選ぶことができた。

また生育阻害作用は、固体培養でより生産することが判明した。固体培養および液体培養では代謝物プロファイルに違いがあることが判明したが、ただし、両者で異なる化合物は数十以上あり、LC-MS の代謝物プロファイルの比較だけからでは、麹菌の生育抑制作用に関連する物質の特定は難しい。現在、簡易的に精製し、特定するための方法を、産業技術総合研究所の新家博士との連携で進めている。

また、抗真菌剤が作用した際の麹菌の遺伝子の発現プロファイルの解析から、その化合物の作用について推定することを目指している。このために、生理活性物質を段階的に濃度を変えて、麹菌に作用させ、その際の遺伝子発現プロファイルを DNA マイクロアレイなどで解析する計画である。

②-2 「有用生物資源の探索技術開発」

②-2-1 「新規微生物資源探索技術開発」

琉球大学 熱帯生物圏研究センター

1. 目的

環境中から既存の手法で分離培養が可能な微生物は、全体の1%未満と見積もられており、亜熱帯の微生物資源を十分に活用するには新規な技術の導入が必要である。そこで、培養を介する事なく遺伝子資源の利用を可能にするメタゲノム解析や、数 cell からの全ゲノム増幅が行える WGA 法を適応する事により、環境試料からの遺伝子資源探索を行う。また、分離培養についても様々な手法を用いて培養効率の改善を試みる。

2. 3年間の全体計画

事業期間内において、発酵食品中の微生物や動物等に共生する難培養微生物群集の構造解析を行って新規有用微生物等の探索を行う。また、微生物培養技術開発として、培養条件を詳細に検討する事により分離の効率を向上させる方法を検討する。さらには、分離可能な微生物の代謝産物が難培養微生物の成育を促進する可能性について検討を行い、微生物代謝物相互作用を利用した難培養微生物の培養技術開発を行う。カイメン等に付随する難培養有用微生物等についても、single cell-マニピュレーションやゲノム増幅技術を活用する事によりゲノム情報からの有用遺伝子資源探索を試みる。

3. 平成23年度研究成果

本年度は、微生物資源の探索技術開発に関する取り組みとして、沖縄近海で採取される有用化合物の生産が期待される海産生物（海綿、ホヤ、イソギンチャク）の共生微生物相解析に着手した。12種類の海産生物から共生バクテリアの16S rRNA 遺伝子を増幅し、ギガシーケンサーを活用して網羅的な微生物相解析を行った。その結果、解析に供した海産生物に共生するバクテリアのほとんどが既知の系統とは大きく隔たった難培養微生物であること、特定の数種が主要な構成要素として存在していることを明らかにした。また、放線菌が主要な構成要素である生物ではシアノバクテリアが少なく、シアノバクテリアが優占する生物では放線菌が少ない等の興味深い傾向も見出された。本年度はさらに、難培養微生物の培養化技術開発の一環として、休眠覚醒因子の作用機序を模して細胞壁を部分的に分解することで環境微生物の培養効率の改善を試みた。その結果、土壌試料を一定時間酵素で処理して培養することで、明確な培養効率（CFU）の改善が認められた。

4. 考察（今後の課題と展望等）

海産生物が生産する有用代謝産物と共生微生物の関わりを明確にするためには、共生微生物相の解析に加えて宿主動物の正確な同定が必要であることから、現在リボソーム RNA 遺伝子による分子同定を進めている。一方で、解析に用いた試料抽出物の解析も行い、共生微生物相との関係について明らかにして行きたい。一方の難培養微生物の培養化技術開発については、培養効率の改善により得られる微生物に新規（難培養）なものがどの程度含まれるのか検討する必要がある。また、切断特性の異なる酵素や処理濃度、時間等の検討を行って、環境微生物の培養効率改善に最も効果がある条件を見出す予定である。

②-2 「有用機能の発現に関わる遺伝子の解析」

②-2-2 「新規生合成遺伝子探索技術開発」

(独) 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター

1. 目的

本研究開発項目では、主に次世代シーケンサーである「Roche Genome Sequencer FLX System」や「Illumina Genome Analyzer IIx」等を用いて、全生合成遺伝子クラスターの同定と取得を行う。また、上記解析により得られた配列情報を活用して、新規生合成遺伝子保有菌から能動的に該当遺伝子の取得を行う。

2. 3年間の全体計画

新規生合成遺伝子を取得するためには、既知の化合物対生合成遺伝子の情報を多く取得することが重要である。そこで、放線菌生合成遺伝子のうち、PKS 遺伝子に着目し、I型 PKS 遺伝子として、環構造の大きさの異なる化合物 6 種類以上の生合成遺伝子を決定し取得する。またII型 PKS 遺伝子として 4 種類以上の生合成遺伝子を決定し取得する。NRPS などの生合成遺伝子に関しては、随時構造的多様性を持った化合物を選抜し、5 種類以上の生合成遺伝子を決定し取得する。これら得られた生合成遺伝子、および既知の報告されている放線菌ゲノム情報などから、共通プライマーおよびそれぞれの化合物に特有なプライマーを設計し、保有する菌株に対してどのような生合成遺伝子を持っているかの判定を行い、既知の化合物とは異なる骨格を有する新規生合成遺伝子の取得を目指す。

3. 平成23年度研究成果

平成 23 年度は、沖縄科学技術大学院大学（旧沖縄科学技術研究基盤整備機構、OIST）において、「Roche Genome Sequencer FLX System 454」を用いて解析した放線菌ゲノム情報に基づいて生合成遺伝子クラスターを同定する技術の開発を行った。放線菌の生合成遺伝子のうち、ポリケチド合成 (PKS) や非リボゾーム型ペプチド合成 (NRPS) に関しては、高度に保存されているが、化合物の構造と生合成遺伝子のシーケンス情報を照らし合わせることにより、高度に特定可能なシステムを構築した。

さらに、100 kbp におよぶ巨大な生合成遺伝子クラスターを取得することが可能な、BAC ベクターを用いたクローニング法に関して、放線菌に特化した技術を確立するため種々の検討を行い、120 kbp 程度の生合成遺伝子クラスターであれば、ほぼ完全に生合成遺伝子クラスターを取得可能な技術を確立した。

以上のシステムを用いて、沖縄県から採集した土壌および海洋生物に由来する放線菌より、幾つかの生合成遺伝子クラスターの同定、および取得に成功した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

放線菌ゲノムのギガシーケンサーによるドラフト配列決定、BAC を用いた巨大生合成遺伝子クラスターの取得が可能になり、本研究分野における放線菌に関する技術体系としてはほぼ確立出来たと言える。今後は、本技術を、らん藻などの他の有用物質生産生物に適用することが期待される。放線菌ゲノムは GC コンテントが高く、DNA 合成などが困難であるが、長鎖 DNA 合成技術を確立することにより、異種生物のゲノム情報を基に放線菌に適したゲノムに変換し応用することが可能になる。

研究開発項目③：有用生物資源の利用技術開発と高度化

③-1 「有用機能の発現に関わる遺伝子の解析」

③-1-1 「ホヤ類のセルロース合成系の解析」

沖縄科学技術大学院大学

1. 目的

本研究は、セルロースの生合成分子機構の解明をめざし、生合成の場である膜タンパク質複合体ターミナルコンプレックスの構成タンパク要素を同定することを目的とする。

2. 3年間の全体計画

研究対象にはホヤ（主にカタユレイボヤ）を用いる。本研究は、ホヤ胚からターミナルコンプレックスを精製する過程と、精製したターミナルコンプレックスを液体クロマトグラフィタンデム質量分析システムで同定する過程で構成される。1年目は、抗セルロース合成酵素抗体の特異性に基づいてターミナルコンプレックスの局在を評価する系の確立に努めるとともに、効率的に膜画分を回収する為のホヤ胚破碎条件の検討を行う。2年目は、確立した評価系ならびに破碎法に基づいて、ターミナルコンプレックスの精製に取り組む。精製にあたり、超遠心分離による膜画分の分画に引き続いて、脂質ラフトの濃縮と可溶化に取り組む。3年目は、精製したターミナルコンプレックスを液体クロマトグラフィタンデム質量分析システムで分析し、構成タンパク要素の同定を行う予定である。

3. 平成23年度研究成果

初年度に確立した評価系ならびに破碎法に基づいて、計画通りターミナルコンプレックスの精製を進めた。まず、ホヤ胚から調製したラフト画分にはターミナルコンプレックスが局在しないことを明らかにした。そこでラフト濃縮を経ることなく、超遠心分離で調製した膜画分から直接ターミナルコンプレックスを可溶化する条件を検討した。その結果、複合体の構成を破壊することなくターミナルコンプレックスを可溶化することに成功した。可溶化したターミナルコンプレックスは、ブルーネイティブ電気泳動法によりさらに濃縮をすすめ、SDS-PAGEによる2次元展開に供することで、濃縮画分に含まれるタンパク分子を40以上のバンドとして検出することに成功した。これらのバンドを液体クロマトグラフィタンデム質量分析システムに供し、分析中である。

4. 考察（今後の課題と展望等）

現在質量分析システムを用いて同定作業を進めており、ブルーネイティブ電気泳動法による濃縮画分に含まれるタンパク分子が網羅的に同定される見込みである。同定された分子が実際にターミナルコンプレックスの構成要素であるか否かは、ひとえに分析検体におけるターミナルコンプレックスの精製純度による。精製純度が高ければ、セルロース合成酵素をはじめとしたターミナルコンプレックス構成要素が同定されるが、純度が低ければ、挙動を同じくする他の膜タンパク複合体の構成要素が同定される。仮に後者の場合、ターミナルコンプレックスを他の膜タンパク複合体から分離する作業が必要となる。本年度の成果として、本課題の最大の課題であることが予想されたターミナルコンプレックスの可溶化に成功したことが挙げられる。

③-1 「有用機能の発現に関わる遺伝子の解析」

③-1-2 「高温耐性に寄与するイソプレン合成遺伝子の構造と制御機構の解析」

琉球大学 熱帯生物圏研究センター

1. 目的

亜熱帯島嶼域の植物は高温、強光、塩分等の環境ストレスに適応して生育している。このような過酷な自然環境に適応するためには、ストレス耐性遺伝子群の構造とこれらを制御するネットワークを環境に順応して進化させる必要があったと考えられる。環境ストレスに対する生物の適応方法は一様ではなく、複数の系を効率よく制御し、ストレスを克服する最適の状況を作り出していると想像される。従って、熱帯植物のゲノムにはこれらの環境ストレスに適応するシステム情報が蓄積されていることになる。本研究においては、近年飛躍的に進歩したシーケンス技術を活用することにより、熱帯植物の高温耐性機構について、機能遺伝子の構造だけでなくこれらの制御を司るネットワークシステムを統合的に解析し、これらの知見を耐暑性作物の創出等に応用することを目的とする。

2. 3年間の全体計画

植物は強い光や高温にさらされるとイソプレンという揮発性炭化水素を合成放出し、葉緑体チラコイド膜構造を安定化させることで耐暑性形質を獲得していると考えられている。しかしながら、熱帯樹木のイソプレン合成遺伝子についてはこれまで報告がない。そこで、本研究では熱帯樹木のイソプレン合成遺伝子に着目し、光と温度に依存した放出制御機構の全体像を解明することを目指す。具体的には、光と温度に対するイソプレン放出の応答特性の解明、イソプレン合成遺伝子のクローニングと機能解析、光と温度に依存した情報伝達と遺伝子発現制御機構の解析を行い、系全体におけるイソプレン放出の高温耐性形質への寄与度と生理的意義を評価する。最終的には、熱帯植物由来イソプレン合成酵素を作物に導入し、耐暑性作物の創出等に応用することが可能かを検討する。

3. 平成23年度研究成果

イソプレン放出モデル式の温度及び光係数を熱帯樹木に合わせて最適化した改変 G93 モデル式の有効性を検証し、従来の G93 よりも放出量の推定精度が高いことを明らかにした。また、熱帯樹木モクマオウのイソプレン生合成酵素の遺伝子クローニング及び酵素タンパク質の発現を行い、イソプレン合成酵素遺伝子の系統及び発現酵素の金属依存性が熱帯樹木と温帯樹木では異なることを明らかにした。

昨年度の研究において熱帯樹木では気温 12°Cを閾値としてイソプレン放出のオンオフが制御されていることを明らかにした。今年度の研究においては、低温で停止したイソプレン放出を再起動するためには明期で高温に暴露されることが条件となっていることが示唆された。次いで、高温暴露によりイソプレン放出に至る制御の流れを把握するのに重要と考えられる時系列的なポイントを特定し、遺伝子発現を解析するためのサンプル調製を行った。

4. 考察（今後の課題と展望等）

平成23年度の研究により、①熱帯樹木と温帯樹木のイソプレン合成酵素の系統及び酵素学的特性が異なっていること、②熱帯樹木からのイソプレン放出のオンオフには明期の温度が重要な

因子であることが示された。次年度は停止したイソプレン放出が再開される際の遺伝子発現及びイソプレン合成酵素の構造学的特性を解析することにより、熱帯樹木のイソプレン放出制御の概要と系全体としての特徴を明らかにする予定である。

③-1 「有用機能の発現に関わる遺伝子の解析」

③-1-3 「未利用真菌の有用物質生産に関連する遺伝子の解析」

(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門

1. 目的

有用物質を再現性かつ効率よく生産して利用するためには、有用物質生産に関わる遺伝子およびその発現の制御・調節に関わる要因を明らかにすることが必須である。次世代シーケンサーを主としたゲノム解析により、有用物質生産と関連した遺伝子情報を効率的に取得することを目指す。

2. 3年間の全体計画

本研究は、有用物質を生産する糸状菌数株を対象として、そのゲノム解析を実施し、有用物質生産に関連する遺伝子を明らかにする。しかし、従来はゲノム解析には数年以上の期間を要していた。新たな次世代シーケンサーを主とした方法を有効に用いることで、3年の計画内で有用物質の生産に関わる遺伝子情報を得られるようにすることが重要である。

第一に、抗真菌剤など有用物質の生産にかかわる遺伝子を特定する基盤として、スクリーニングから選択した抗真菌化合物を生産する未利用真菌のゲノム塩基配列を決定する。

さらにゲノム塩基配列を基に、近縁の種との比較ゲノム解析などを利用して、遺伝子部分の同定や、*synteny* 解析などを進める。対象とする真菌のゲノム塩基配列を用いて固有な *non-syntenic* な領域の遺伝子に焦点をあてて解析することで、有用な形質と関連する遺伝子の候補を効率よくかつ精度高く予測することが可能になる。

第二に、有用物質の生産と関連する遺伝子の発現プロファイルを解析し、生産に必須の遺伝子の同定を目指す。ゲノム解析を基にして、次世代シーケンサーなどを用い、各種培養条件で発現している遺伝子を明らかにする。生合成遺伝子、生産物質の輸送、発現の制御・調節に直接的にかかわる遺伝子の候補を特定する。特に固体培養など培養条件特異的に発現する遺伝子に注目することで、制御機構についても知見を得ることを目指す。

3. 平成23年度研究成果

麹菌の生育に阻害作用のある代謝物を生産していた真菌の9種を培養し、次世代型シーケンサーによるゲノム解読を目的に、ゲノムDNAを調製した。現在までに5属5種のゲノムDNAを調製することができた。これは次世代シーケンサーで、*mate-paired* ライブラリーを調製するのに十分な量であった。また、5株の内、4株は沖縄由来の真菌であり、近縁のゲノム配列が未知の属の糸状菌である。ゲノムDNAを用いて、次世代型シーケンサーSOLiDを用いた。この結果、1株については、既に *mate-paired library* のシーケンシングデータが得られている。さらに、残りの4株については、沖縄でのライブラリーの作成からお願いし、既に全4株のデータ測定が完了した。

1株について得られた *mate-paired library* のデータを基にして、ゲノム配列の *de novo* アセンブルを行った。SOLiD用の *de novo accessory tools* を用いて解析した結果、1 kbp以上の *contig* が270個にまでつなげることができた。この *contig* の配列を基に、遺伝子領域を同定した結果、10個程度以上の遺伝子が並んだ塩基配列情報を得るという目標を達成することができた。

また、有用物質生産に必須の遺伝子候補を上げることを目標として、次世代シーケンサーを

用いて、【有用物質生産時および非生産時】の遺伝子発現プロファイルを得た。得られた配列データを、contig の塩基配列データにマッピングしたところ、条件によって多少の違いはあるが、17,611,949 - 29,890,712 個のマッピングが得られ、遺伝子ごとの発現数のデータに変換して解析することができた。

4. 考察（今後の課題と展望等）

麹菌の生育阻害作用を示し、新規の化合物を生産すると期待される 9 種を選ぶことができた。この内、5 種の DNA を調製し、沖縄県工業技術センターおよび沖縄科学技術振興センターの協力を得て SOLiD のデータを得ることに成功した。また 2 種について培養条件数種の発現プロファイルデータを得ることができた。1 株について、SOLiD のデータを用いてアセンブルし、contig の作成ができた。遺伝子同定およびマッピングを行い、有用物質の生産と関連する複数の遺伝子候補を出すことができた。これにより、1 株について、ゲノム DNA から遺伝子候補を得るまでの解析システムを完成させることに成功した。

今後、残りの 4 株についても同様に解析を進めるとともに、候補遺伝子を破壊するなどして、有用物質の生産と関連する遺伝子を確定したい。

③-2 「効率的な有用物質生産を目指した生産技術の高度化」

③-2-1 「有用物質の生産性向上に向けた培養条件の検討」

オーピーバイオファクトリー(株)

1. 目的

各種スクリーニング等により活性化合物が見出された場合、その構造を明らかにする必要がある。そのため精製に必要な材料を大量に取得する必要がある。それが微生物の生産する2次代謝産物の場合、ジャー等の大量培養装置による大量生産が必要となる。また、コルベンレベルからジャーレベルへのスケールアップが必要となり、力価を維持した生産培養の技術の確立が必要になるため、その技術の確立を計る。

2. 3年間の全体計画

有用物質の生産が認められた場合、その構造決定、高次評価のため純度の高い大量の試料が必要となる。そのため目的化合物の生産性の向上が求められる。目的物質の生産性を向上させる目的で生産菌のゲノム塩基配列解析や二次代謝関連遺伝子の特定を行い、それら情報に基づく二次代謝関連遺伝子の高発現化等により、二次代謝産物産生能の向上を行う。また、培地成分としてC源、N源、無機塩、微量ミネラル、前駆体等により、目的化合物生産に向けた培地の至適化を検討し、生産の向上を検討する。目的化合物を大量に取得するためには大量培養が必須となり、ジャーフェーマンターを用いた大量培養を実施する。大量培養実施にあたり攪拌速度、溶存酸素量、pH、温度等の生産への影響を検討し、目的化合物生産に対する至適培養条件を検討する。

特殊条件下のみで発現する化合物（例えば共生生物の存在環境、高浸透圧下での培養、重金属存在下での培養、高温での培養等）も考えられる事から、様々な物理化学的な特殊培養条件の検討を行う。特殊条件下での培養においては、特殊条件下で一般的な菌種の生育は難しく、特殊条件下でも生育できる菌株の分離も合わせて実施する。

3. 平成23年度研究成果

本年度は、研究開発項目②-1-1「亜熱帯生物資源ライブラリーからの有用機能性探索」において選抜した、抗菌活性を示す微生物株の培養検討を行った。抗菌活性を指標とし、培地組成、培養温度、培養日数、pH、振とう条件、塩濃度等の項目について検討した。

枯草菌 *Bacillus subtilis* に対して抗菌を示す10株（糸状菌5株、放線菌5株）について、活性成分を精製するため、液体培養を実施した。活性成分の生産量が最も高い培地を決定するため、*Bacillus subtilis* に対する抗菌を指標として培地組成の検討を行った。菌株に応じて活性が最大となる培養条件を決定した。活性が確認できない株は、濃厚培地や静置培養の検討も行った。大量培養装置（ジャーフェーマンター）による培養を実施し、10Lスケールの培養を可能にした。

また、微細藻類株の大量培養の実施に対応するため、大量培養装置に光源を設置した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

引き続き、抗菌活性を示す微生物株や有用物質を生産する微細藻株の生産培養検討を行い、至適条件の確定後、大量培養を実施し化合物の精製に供する。抗菌活性を指標とするほか、HPLCによる活性成分の定量法を導入し、より正確な評価法を確立し、培養の活性評価に利用する。医薬リード化合物やその他の有用物質生産の候補株が見つかった場合、OISTとの連携により、ゲノム塩基配列解析や二次代謝関連遺伝子の特定を行い、関連遺伝子の高発現化等による化合物生産能の向上を図る。

③-2 「効率的な有用物質生産を目指した生産技術の高度化」

③-2-2 「生合成遺伝子異種発現技術の開発と天然化合物ライブラリーの構築」

(独) 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター

1. 目的

放線菌生合成遺伝子の発現と化合物生産は、遺伝子操作の容易な大腸菌を用いて行われてきたが、その生産量はマススペクトロメトリーで検出がようやく可能なレベルでしか生産できない。そこで、スクリーニングのライブラリーとして使用する化合物量を確保するため、放線菌を宿主とする異種発現研究が盛んに行われてきている。本研究開発項目では、様々な生合成遺伝子のトランスフォームに対応可能な放線菌宿主を調製すると共に、I型 PKS 生合成遺伝子のような大きなサイズの生合成遺伝子をも扱えるシステムを開発する。本研究は、放線菌宿主を用いて、主に放線菌二次代謝産物生合成遺伝子クラスターを導入し、異種発現システムにより化合物生産を行うことを目的とする。

2. 3年間の全体計画

得られた生合成遺伝子クラスターについて、コスミドあるいは BAC に導入し、*Streptomyces albus* および *S. lividans* を宿主として用いて、I型 PKS 生合成遺伝子として、環構造の大きさの異なる化合物 3 種類について、II型 PKS として 2 種類の生合成遺伝子について、III型 PKS について 2 種類、および 2 種類の NRPS 生合成遺伝子に関して、異種発現を行う。

また、らん藻由来の生合成遺伝子に関しては、放線菌のコドン使用頻度に対応したコドンに変換し、上記システムにて異種発現を試みる。

3. 平成 23 年度研究成果

平成 23 年度は、これまでに取得した生合成遺伝子クラスターに関して、放線菌宿主を用いて異種発現生産を進めた。当初の計画にある宿主株 *Streptomyces albus* G153 株に加えて、極めて形質転換効率の高い宿主株である、SUKA 株 (SUKA17) を用いて生合成遺伝子クラスターの形質転換、および異種発現生産を行った。

異種発現用コスミドベクターとして、pTOYAMAcos を用いて取得した aureothin 生合成遺伝子クラスター、および pKU408 を用いて取得した novobiocin 生合成遺伝子クラスターを、発現ベクターである pKU465 に載せ換え異種発現生産を行った。G153 株および SUKA17 株を用いて形質転換を行った結果、SUKA17 株のみに両化合物の生産が確認された。また、BAC ベクターとして得られた、erythromycin および bafilomycin に関して、SUKA17 株で生産が確認された。

4. 考察 (今後の課題と展望等)

本年度は、放線菌宿主株を *Streptomyces albus* G153 株から、SUKA 株 (SUKA17) へ変更し、異種発現生産を行ったが、両宿主間での形質転換効率の差が異種発現に与える影響が大きい事が判明した。現在、取得した生合成遺伝子クラスターの残りに関して異種発現生産を進めている。来年度は可能であれば、他のチームより出てくる事が期待される、らん藻など他の生物種について、生合成遺伝子クラスターを取得、放線菌型コドンに変換し異種発現生産を進めていく。

研究開発項目④：先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発

④-1 「先端シーケンサーを活用したゲノム情報の高精度・高速解析技術の開発」

沖縄県工業技術センター / (財) 沖縄科学技術振興センター

1. 目的

先端シーケンサー、特に第2世代型シーケンサーは登場当初に比べ普及し続けてきており、よりバイアスのかからない前処理技術や膨大なデータを高効率に処理するための情報処理技術といった基盤技術の開発が様々な機関で行われている。また、既存装置の改良や新たな技術を採用したシーケンサーの登場により読取長や読取精度の向上も絶え間なく進められてきているところである。

これら先端シーケンサーを活用し、ゲノム情報を高精度・高速に解析するためにはその変化に対応するとともに基盤技術を見直し、改良を続けていくことが重要である。

本研究項目では二次解析、特に *de novo* アセンブルに主眼を置き、その精度や速度の向上を図ることを目的とする。

2. 3年間の全体計画

次の項目を実施し、高精度・高速にゲノム配列構築が可能となる手法の確立を目指す。

- i 標準プロトコルによるライブラリー調製方法の評価及び最適化
- ii 非商用ソフトウェアを中心とした解析ツールの整備
- iii 高速・高効率処理を目的としたハードウェアの最適化
- iv 高精度 *de novo* アセンブル手法の確立

3. 平成23年度研究成果

平成23年度は高精度 *de novo* アセンブル手法確立の第一段階として、小データで詳細な検討が可能なサイズ (48,502 bp) である λ ファージの DNA を用い、*de novo* アセンブルの実施、課題の抽出及び課題解決の検討を行った。

異なる機種種のシーケンスデータを比較することで一機種のみでは精度若しくは構築配列長に課題があることを確認し、これらを組み合わせることで 99.98%の精度で一連の配列を構築できることがわかった。

4. 考察 (今後の課題と展望等)

de novo アセンブルの難易度はゲノムサイズその他、GC 含量やリピート領域の分布状況により大きく異なる。今年度は小サイズの配列構築に留まったが、真正細菌や真菌といったより大きなゲノムサイズの *de novo* アセンブルについても手法の検討を行っていく必要がある。

今後は、今年度導入された PacBio RS の本格運用やデータ検証、更に各機種種の特性に応じた環境整備を進め、研究開発項目①～③のみならず多様な研究分野へ適用可能な基盤技術の構築を図りたい。

④-2 「先端シーケンサーのデータを有効活用するアプリケーションの開発」

沖縄県工業技術センター / (財) 沖縄科学技術振興センター

1. 目的

先端シーケンサーは単一生物に由来するゲノム配列を解析するのみならず、発現解析等のゲノム情報をベースとした様々なアプリケーションにも使用されており、並列的大量配列読取という特性を背景に網羅的解析を可能としている。

この網羅的解析において有用な情報を産出するためには、膨大なデータを以降の実験でハンドリング可能なデータへと処理する必要があり、目的に応じたライブラリーを調製するウェット系技術や有効データ選抜のためのインフォマティクス技術といった基盤技術が重要となる。

本研究項目では、先端シーケンサーの広範な分野への活用を目指し、実用性の高いアプリケーションの実行を目指す。

2. 3年間の全体計画

実用性の高いアプリケーションの実行を目指し、次の項目を実施する。

- i 各アプリケーションに対応した標準キット等によるライブラリー調製方法の評価及び最適化
- ii 各アプリケーションに応じた解析ツールの整備
- iii アプリケーション毎の解析手法の確立

3. 平成23年度研究成果

平成23年度は、哺乳動物のミトコンドリア DNA をターゲットとした MT-seq 法の開発検討を行った。

最初に、対象個体から複数回サンプリング可能な試料として血液を選択し、採取した全血から核 DNA を多く含む Total DNA 及びミトコンドリア DNA を濃縮した mt-DNA を抽出した。次に、各 DNA をシーケンスの後アセンブルし、コンティグ配列を得た。

得られたコンティグ配列をデータベースに登録されているミトコンドリア DNA の配列と比較したところ、Total DNA から得たコンティグにはミトコンドリア DNA の配列が認められなかったが、mt-DNA から得たコンティグにはミトコンドリア DNA と配列がほぼ一致するコンティグが認められた。

4. 考察 (今後の課題と展望等)

哺乳動物のミトコンドリア DNA は核 DNA に対しコピー数は多いものの非常に小さく、Total DNA を対象にシーケンスした場合、大量かつミトコンドリア DNA 解析には不要となるデータ出力が必要となる。今回採用した手法により、比較的少ないデータ量でミトコンドリア DNA を解析可能であることが示されたが、実用的には多くの個体を低コストに解析することが求められるため、試料や DNA 抽出方法、シーケンスプラットフォームの選択等コストダウンに向けた更なる検討が必要である。

今後は、今年度導入された PacBio RS の本格運用やデータ検証、更に各アプリケーションに適した解析手法の検討を進め、MT-seq 法のみならず多様なアプリケーションの実行を目指したい。

(2) 研究推進委員会

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」の円滑な推進を図るため、本事業に関する研究推進委員会設置要綱に従って4名の研究推進委員を委嘱するとともに、2回の研究推進委員会を開催した。研究推進委員会では、研究推進委員を中心として活発な意見交換が行われた。研究推進委員及び研究推進委員会の議事要旨は、以下の通りである。

(2) - 1 研究推進委員

大西 康夫 東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 教授
五味 勝也 東北大学大学院 農学研究科 生物産業創成科学専攻 教授
外山 博英 琉球大学 農学部 亜熱帯生物資源科学科 教授
山岸 明彦 東京薬科大学 生命科学部 分子生命科学科 教授 (委員長)

(2) - 2 第1回研究推進委員会

1) 日 時 平成23年6月30日(木) 13:30 - 17:00

2) 場 所 沖縄ポートホテル 2階「フィニックス」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 (財) 沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
- ・研究推進委員紹介、委員長選出等 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 山岸 明彦
- ・「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について 事業総括 平野 隆
- ・「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」事業の進捗 研究統括 新里 尚也
- ・各研究開発項目の全体計画及び平成23年度研究計画 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 山岸 明彦
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について

資料に基づき、事業総括より「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について説明及びコメントがあった。

(2) 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」事業の進捗

資料に基づき、研究統括より「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」の進捗について説明が行われた。

(3) 各研究開発項目の平成23年度研究計画の説明と質疑応答

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、全体計画、平成23年度計画およびこれまでの進捗状況について説明が行われ、質疑応答があった。

(4) 総合討論

各研究機関からのプレゼンテーションに対して、特に、研究課題全体に関わる課題として、

1) 生物資源ライブラリー、及び、2) ゲノム解析の観点から全体討議が行われた。

(2) - 3 第2回研究推進委員会

1) 日 時 平成24年1月30日(月) 13:30 - 17:00

2) 場 所 沖縄ポートホテル 2階「ベガ」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 (財) 沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
- ・研究推進委員紹介 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 山岸 明彦
- ・「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について 事業総括 平野 隆
- ・「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」事業の進捗 研究統括 新里 尚也
- ・各研究開発項目の平成23年度研究成果 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 山岸 明彦
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について

事業総括より、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」事業について、1)共同研究事業の進捗状況、2)事業内連携体制の推進等の観点から説明が行われた。

(2) 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」事業の進捗に関する説明

研究統括より、「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」事業に関するこれまでの進捗状況について、1)事業の概要、2)共同研究事業の代表的な成果、3)事業実施機関間の共同研究・連携の実施状況等の観点から概要説明が行われた。

(3) 研究開発項目の平成23年度研究成果

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、平成23年度研究成果について説明が行われ、その後、質疑応答があった。

(4) 総合討論

総合討論では、1)各研究機関の成果、及び、2)研究課題全体に関わる課題について質疑応答が行われた。特に、研究課題全体に関わる課題では、1)ゲノム解析、及び、2)生合性遺伝子の取得の観点から討論が行われた。

(3) ネットワーク構築に向けた取り組み

「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」事業を推進するに当たっては、各研究実施機関では、共同研究事業を担当している研究機関同士の共同研究・連携はもとより、本事業を直接担当していない沖縄県内外の研究機関との共同研究・連携を図りながら研究を推進した。

共同研究契約に基づく共同研究機関数は、大学・独立行政法人・公設試等併せて 7 件、また、民間企業との共同研究数は、製薬企業、化学系企業、ヘルスケア企業等 4 件、合計では 11 件であった。

一方、連携機関数では、大学・独立行政法人・公設試等併せて 13 件、民間企業との連携は 5 件、合計では 18 件であり、共同研究機関数、連携機関数ともに昨年度より増加した。

更に、共同研究事業を担当している研究機関相互の共同研究・連携については、平成 22 年度では 4 件であったが、平成 23 年度では 7 件に上り、ゲノム解析を中心に益々活発な交流が行われており、具体的な成果につながった。

また、沖縄県内で次世代シーケンサーを運用する 5 研究機関（沖縄科学技術大学院大学、琉球大学・熱帯生物圏研究センター、沖縄県農業研究センター、沖縄県工業技術センター/(財)沖縄科学技術振興センター）の解析担当者を対象とした、「次世代シーケンサー技術交流会」を定期的に 4 回開催し（座長：新里尚也 研究統括）、技術的課題の共有と議論を通して研究者・技術者のネットワーク形成を図った。

1) 共同研究機関 11 件

- ・大学・独立行政法人・公設試等 7 件
- ・民間企業 4 件

2) 連携機関 18 件

- ・大学・独立行政法人・公設試等 13 件
- ・民間企業 5 件

3) 次世代シーケンサー技術交流会の開催

第 1 回技術交流会

日時：平成 23 年 7 月 19 日（火） 13:00～15:30

場所：沖縄県工業技術センター 2F 会議室

1. 次世代シーケンサー見学会

知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業 オープンリサーチセンター

2. 次世代シーケンサー技術交流会

第 2 回技術交流会

日時：平成 23 年 9 月 9 日（金） 13:00～14:00

場所：沖縄健康バイオテクノロジー研究開発センター 1F 第 1 会議室

1. 次世代シーケンサー見学会

(独) 沖縄科学技術研究基盤整備機構 (現：沖縄科学技術大学院大学) DNA シーケンシング課

2. 次世代シーケンサー技術交流会

第3回技術交流会

日時：平成23年11月29日（金） 13:30～15:30

場所：琉球大学 熱帯生物圏研究センター 分子生命科学研究施設 1F 講義室

1. 次世代シーケンサー見学会

琉球大学 熱帯生物圏研究センター 分子生命科学研究施設

2. 次世代シーケンサー技術交流会

第4回技術交流会

日時：平成24年2月17日（金） 14:00～16:30

場所：沖縄県農業研究センター 2F 会議室

1. 次世代シーケンサー見学会 沖縄県農業研究センター

2. 次世代シーケンサー技術交流会

3-2 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」

研究開発項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」

- ①-1 「原位置微生物群を応用した環境浄化技術の研究開発」 (東京農工大学大学院)
- ①-2 「原位置微生物群の培養技術開発及び実証研究」
(オーピーバイオフィクトリー(株) / 東京農工大学大学院)

研究開発項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」

- ②-1 「微細藻類、ラビリンチュラ類株の収集」
(琉球大学 理学部 / オーピーバイオフィクトリー(株))
- ②-2 「オイル、生理活性物質等有用物質探索」
(琉球大学 教育学部 / オーピーバイオフィクトリー(株))
- ②-3 「廃棄物（畜産廃水，養殖池廃水，し尿等）利用による培養法検討」
(オーピーバイオフィクトリー(株))
- ②-4 「有用微細藻類、ラビリンチュラ類のゲノム解析」 (沖縄科学技術大学院大学)
- ②-5 「育種、スケールアップ、抽出法に関する研究」 (オーピーバイオフィクトリー(株))

(1) 研究成果の概要

研究開発項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」

①-1 「原位置微生物群を応用した環境浄化技術の研究開発」

東京農工大学大学院

1. 目的

本研究開発では、バイオオーグメンテーション法による土壌浄化を目的に、現場に生息する微生物（原位置微生物）から浄化に有効な微生物コンソーシアを構築し、その投入方法を開発すると共に、コンソーシアの安全性評価手法を開発し、実証する。対象とする汚染は、揮発性有機塩素化合物、油及び PCB などである。特に、沖縄県は気候や土壌が他の地域と大きく異なることから、他の地域から得られた微生物は有効ではない可能性が高く、原位置微生物の利用は環境保全と同時に浄化の効率化という観点からも重要である。

2. 3年間の全体計画

3年間で沖縄県内での揮発性有機塩素化合物、PCB 及びベンゼンで汚染された土壌での浄化に有効な微生物コンソーシアを構築することを目的としており、沖縄県内から採取したサンプルを用いた分解コンソーシア構築を実証研究チームと協力して行い、分解能と SOLiD を用いたメタゲノム解析による安全性評価などを行い、実用性の高いものを選択する。新規性の高い微生物が発見された場合には特許の申請と論文発表を行う。

3. 平成23年度研究成果

揮発性有機塩素化合物による汚染については、これまでに確立したトリクロロエテン分解微生物コンソーシアのメタゲノム解析を行い、継代に伴う細菌叢の変化を解析した。さらに、テトラクロロエテンを分解する微生物コンソーシアを確立した。このコンソーシアには *Dehalococcoides* 属細菌がほとんど存在しないことから、新規な微生物が発見される可能性が高い。このコンソーシアについても SOLiD5500 による解析を行った。ベンゼンで汚染された土地 5カ所から採取した地下水または土からベンゼン分解微生物コンソーシアの確立を試み、3カ所から高いベンゼン分解能を示す微生物コンソーシアを確立した。これらのメタゲノムも SOLiD5500 で解析した。さらに、沖縄のガソリンスタンド跡地から採取した地下水からもベンゼン分解微生物コンソーシアを確立し、このメタゲノムの解析も年度内に行う予定である。SOLiD5500 に対応したデータ解析技術の構築を進めており、それぞれのゲノムデータの詳細な解析を進行中である。

4. 考察（今後の課題と展望等）

本次世代 DNA シークエンサーを用いた細菌叢解析では、これまでの解析方法の問題点が明らかになったので、PCR-DGGE 法と比較しながら、改良を行う。SOLiD5500 にバージョンアップされたことに伴う解析ソフトの改良、開発を進める。また、SOLiD5500 と比較して長い配列の解析が可能な Ion Torrent を利用することで、コンソーシアを構成する微生物の詳細なゲノム情報の獲得も目指す。平成 24 年度は、特に沖縄県内の汚染サイトからのサンプル収集と分解コンソーシア作製、解析を行う予定であるが、沖縄県内の浄化業者などとの連携が不可欠である。

①-2 「原位置微生物群の培養技術開発及び実証研究」

オーピーバイオフィクトリー(株)

1. 目的

沖縄県における揮発性有機塩素化合物、PCB またはベンゼンによる土壌、地下水汚染の浄化に有効な微生物コンソーシアを確立し、実際の環境に近いところでの浄化への利用の可能性を評価し、大量培養技術を確立することを目的とする。これらの微生物コンソーシアの実用化に必要な関連技術の開発を行い、本プログラム終了後にただちに実用化できるように開発を進める。

2. 3年間の全体計画

浄化対象とする揮発性有機塩素化合物で汚染された土壌や地下水から分離・構築、大量培養された微生物コンソーシアを用いて、実際に汚染された土壌の浄化実証実験を実施する。

具体的には、(1) 微生物コンソーシアを構築する元となった汚染土壌に対してバイオオーグメンテーションを実施・検証する。まずは、浄化対象とする土壌の従来微生物相の状況や揮発性有機塩素化合物の汚染状況を確認し、次いで、ラボスケールにて培養された微生物コンソーシアを対象土壌に混在、浄化培養し、培養後の土壌中の揮発性有機化合物の残存状況、および投入した微生物コンソーシアの遷移状況を確認することで、微生物コンソーシアの増殖率と浄化率の相関を検証する。

(2) 微生物コンソーシアを構築するための汚染土壌を沖縄県内よりに数点採集し、①-1で構築された技術を用いて、各土壌に合った微生物コンソーシアの大量培養物を作製する。作製された微生物コンソーシア培養物を用いて、ラボスケールでの土壌浄化実験を実施する。この際、(1)に同じく、浄化元の土壌の従来微生物相、揮発性有機塩素化合物の汚染率と浄化培養後の微生物相、揮発性有機塩素化合物の汚染率を比較検討する事により、その浄化能の検証を行う。

(3) 各検証での結果より、良い相関結果が得られた微生物コンソーシアに関しては、プラントスケールへとスケールアップした浄化培養実験を行い、ラボスケールからのスケールアップ検証を実施する。

3. 平成23年度研究成果

実用的な土壌浄化手法開発のための微生物コンソーシアの確立と大量培養技術の確立のため、主にベンゼン汚染を対象とした沖縄県内汚染土壌の調査及び土壌サンプルの採取を目指した。その結果、株式会社アイ・エス・ソリューションの協力により、沖縄県浦添市にある閉鎖ガソリンスタンドの汚染土壌約100L分を採取した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

上記汚染土壌からの微生物コンソーシア確立・大量培養後、汚染土壌の浄化実験を実施する。また、沖縄県内の上記以外の汚染地を探し、汚染土壌の採取を目指す。

研究開発項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」

②-1 「微細藻類、ラビリンチュラ類株の収集（1）」

琉球大学 理学部

1. 目的

沖縄で採取した生物資源のうち、特に微細藻類やラビリンチュラ類を、オイルや生理活性物質等の物質生産に活用するためには、極力単体に株化されたサンプルを用いて評価することが必要となる。そのため、新たな有用株の探索を行うべく、県内各地からサンプリングを行い、それぞれのサンプルに含まれる生物資源から、各種利用試験に供するための株を確立する。

2. 3年間の全体計画

本研究開発では、沖縄県内からできるだけ多くのラビリンチュラ類株や微細藻類株を収集し、3年間で分離株をオーピーバイオファクトリー(株)と合わせて、1,500株以上の確立を目標とする。

3. 平成23年度研究成果

平成23年度の微細藻類およびラビリンチュラ類の採集は、主に沖縄本島から行ない、加えて石垣島および西表島からも採集を試み、合計657株を確立した。従属栄養のラビリンチュラ類と藻類の分離株は、ヤブレッツボカビ類がほとんどで、合わせて808株を分離した。このうち大量培養まで行なったのは288株で、内訳はヤブレッツボカビ類が243株84%で最も多く、次いで従属栄養性の渦鞭毛藻類である *Cryptocodinium* spp. と類縁種が26株で9%、ラビリンチュラ類が4株、原生生物が1株とコンタミネーションのバクテリアが14株の順であった。分離源にはマングローブ落葉等、海藻、海草（アマモ）、海水・泡・泥・砂、陸上植物落葉を用いた。目的微生物であるヤブレッツボカビ類243株の分離源としては、海藻が31%と最も高く、次いで海水等（23%）、マングローブ落葉等（20%）、海草（15%）、陸上植物落葉（11%）の順に分離されていた。

ヤブレッツボカビ類に次いで従属栄養藻類として分離株の確立の目標としていた従属栄養性の渦鞭毛藻類 *Cryptocodinium* spp. および類縁株も26株確立することができた。分離源は、ヤブレッツボカビ類の分離源と共通のサンプルを用い、培地も同じものを用いたところ、マングローブ（54%）、陸上植物（31%）、海草（8%）、海藻（8%）から分離されていた。

微細藻類は、琉球大学構内から気生緑藻類55株と気生シアノバクテリア161株を新たに確立した。前者はガードレール着生の緑藻類に着目し、後者は主に建築物等の壁の黒色の汚れに着目して分離培養を行なった。なお、採集は琉球大学構内のみならず、沖縄本島、石垣島、西表島などでも採集しており、株化するための分離作業を継続中である。これらの気生緑藻類や気生シアノバクテリアは、乾燥、強い紫外線、熱などの過酷な環境に耐えて生育していることから、なんらかの耐性機構を備えていることが予想され、有用物質生産なども期待できる。

4. 考察

ヤブレッツボカビ類の同定は形態観察では困難で、18S rDNA を用いた分子遺伝学的系統解析の結果により判断する必要があるが、うまく解析されていない株が多かった。再分離による株の純化や遺伝子解析実験の最適化を検討する必要がある。なお、確立した株中にわずかに混在していたと思われる細菌や酵母、菌類がその後優先し、再培養がうまくできない株が多く認められた。

従属栄養培地を用いるヤブレッツボカビ類や従属栄養性渦鞭毛藻類は、より慎重に純化を行なう必要がある。気生藻類をはじめ他の微細藻類に付いても新たに分離株を確立することに加え、これらの他に、主に分類学的研究対象として分離された 300 株を超える微細藻類株が保存されている。これらの保存株についても、今後は、生理活性物質生産性試験として、アルテミア生物試験を導入し、生理活性物質の探索や、ナイルレッド染色によるオイル生産性なども調査していく予定で、これらの成果の一部は国際学会等で報告する予定である。

②-1 「微細藻類、ラビリンチュラ類株の収集（2）」

オーピーバイオファクトリー(株)

1. 目的

沖縄県内からラビリンチュラ類株と微細藻類株を分離・収集する。これらの株のオイル生産性・有用物質生産性・廃水処理能力を評価して候補株を選定し、ゲノム解析と実証試験を行う。選定の候補として、これらの株を3年間で1,500株分離・収集することを目指す。

2. 3年間の全体計画

環境浄化・修復やバイオマスからの高付加価値成分やオイルの生産を目指し、これらを生産する沖縄産の候補微生物・微細藻類の株を分離・確立する。

本研究ではラビリンチュラ類を用いて有機負荷の高い廃水を処理しながらオイルを生産してエネルギー生産に結びつけ、さらにその二次廃水を微細藻類の培養に用いてオイル生産や高付加価値産物生産に結びつける。このような島嶼地域での循環型廃水処理・エネルギー生産と高付加価値産物生産を含めた複合システムの基盤技術の構築を、本研究の最終目標とする。この目標を達成するため、研究開発項目②-1では、候補となるラビリンチュラ類及び微細藻類の株を分離・収集する。目標株数は3年間で1,500株とする。

3. 平成23年度研究成果

ラビリンチュラ類・微細藻類株の分離法・培養法を確立した。沖縄県内各地で採集した分離源から計506株を分離・収集した（琉球大学須田研究室との合計株数）。これらを培養し、回収した藻体を研究開発項目②-2の試料として用いた。

(a) ラビリンチュラ類株の収集・培養

各種分離源から、ラビリンチュラ類（広義）（＝狭義のラビリンチュラ類とヤブレッツボカビ類の総称）や、従属栄養型の渦鞭毛藻類の分離株を確立した（琉球大学須田研究室の成果）。従属栄養型渦鞭毛藻類は高付加価値産物を生産する可能性が高いため、これらの株も収集した。分離株のうち、凍結保存後生育が認められた270株を培養し、培養物を作製した。

(b) 微細藻類株の収集・培養

各種分離源を採集し、寒天平板法などの手法を用いて微細藻株を分離した。分離に先立ち、必要に応じて分離源の粗培養や分離源の濃縮処理を行った。その結果、236株の微細藻株を確立し、これらを培養して藻体抽出物を作製した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

今後も引き続き候補株の収集・培養を行う。今後は研究開発項目②-2の評価結果を随時フィードバックし、オイルや生理活性物質を生産する候補株をより効率的に収集できるように努める。

②-2 「オイル、生理活性物質等有用物質探索（1）」

琉球大学 教育学部

1. 目的

本研究は、様々な沖縄の産業に伴って生じる廃水を資源としてとらえ、藻類等のバイオマス生産に利用して、環境浄化・修復を行なうとともに、得られたバイオマスから高付加価値な成分やオイル生産を行なおうというものである。

バイオ技術を活用したオイル生産は様々な観点から研究が進んでいるが、今回の研究では、沖縄で採集した生物資源のうち、直接的にオイルや有用物質等を生産する微生物、微細藻類を用いて、廃水（有機物を多く含んだ農業排水や工業廃水など）の浄化を行いながら物質生産を行い、継続的かつ複合的な資源利用の実現を目指している。

2. 3年間の全体計画

培養した微細藻類、ラビリンチュラ類については、オイル成分生産能確認試験、各種生理活性試験を実施して高付加価値産物の生産能評価やそれら成分の特定を実施する。採集した微細藻類やラビリンチュラ類を培養し、得られた藻体を有機溶媒で抽出する。得られた抽出物を溶媒分配後、カラムクロマトグラフィーを用いてオイル成分を分離する。得られたオイル成分については、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを用いて分離する。さらに、日本触媒等の化学系協力機関との連携により、触媒変換技術によるオイル応用拡大を検討する。

また、微細藻類が生産する活性物質については、簡便かつ迅速に行えるブラインシュリンプに対する致死活性試験を指標として探索する。その他、ファルマフロンティア（株）が保有する糖尿病など生活習慣病に効果を示す物質を探索するアッセイ系を利用して、新機能性素材の探索を行う。また、抗菌・抗真菌活性試験、細胞毒性試験、抗酸化活性試験などの簡易に行える試験は可能な範囲で広く実施し、生理活性成分の幅広い利用方法を模索する。

3. 平成22年度研究成果

培養した 270 株のラビリンチュラ類をろ過後、得られた藻体を凍結乾燥し、アセトン/メタノールで抽出した。さらに得られた抽出物をシリカゲルにより分離し、オイル成分を高濃度に含む画分を得た。このようにして得られたオイル高濃度含有画分について GC マススペクトルを用いて分析したところ、48 株中、15 株がスクアレンを生産していることが明らかになった。また、分析したサンプルのうち 1 株がコレステロールを生産し、2 株が不飽和脂肪酸エステルを生産することが明らかになった。高付加価値産物の探索については、石垣で採取した微細藻類 16 株についてブラインシュリンプに対する毒性を指標として活性成分を探索したところ、2 種類の化合物を単離した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

これまでに 270 株のラビリンチュラ類を培養し、48 株のラビリンチュラ類のオイル成分について分析が完了している。そのうち 15 株がスクアレンを生産していることが明らかになった。今後は残りのラビリンチュラ類の分析を行い、短時間に大量にスクアレンを生産するラビリンチュラ類の同定を行う。また、高付加価値産物の探索においては、石垣島で採集した微細藻類からブラインシュリンプに対して毒性を示す 2 種類の化合物を単離した。これら化合物については、各種スペクトルの解析を行い、化学構造式を明らかにする予定である。

②-2 「オイル、生理活性物質等有用物質探索（2）」

オーピーバイオファクトリー(株)

1. 目的

本研究では、培養した微細藻類、ラビリンチュラ類の抽出物サンプルを作製して様々な評価を実施し、有用な生理活性物質及びオイル成分を探索する。

この研究を通して、微細藻類、ラビリンチュラ類などの天然産物から高付加価値性産物が取得できることを実証し、今後の沖縄天然物資源の価値を高めることを目的とする。

2. 3年間の全体計画

培養した微細藻類、ラビリンチュラ類の試料は、有用オイル成分生産能確認試験および各種生理活性試験を実施して高付加価値生産物の生産能を評価し、それらの成分を特定する。

(a) 微細藻類、ラビリンチュラ類が生産する有用オイル成分の分析

微細藻類、ラビリンチュラ類培養物の有機溶媒抽出物をガスクロマトグラフィー分析し、有用な脂肪酸類成分を生産する株や燃料となるスクアレン成分を多く生産する株を探索する。

(b) 微細藻類（ラビリンチュラ類）が生産する生理活性物質の探索

微細藻類（ラビリンチュラ類）の抽出物を用いて、各種生理活性物質探索評価系に沿った形式に、分配等の処理を実施する。作製したサンプルはオーピーバイオファクトリーでの糖尿病系活性物質評価や抗生物質探索を実施すると共に、琉大・照屋研究室での活性試験に供する。

3. 平成23年度研究成果

各種評価用抽出物サンプルの作製では、培養したラビリンチュラ類・微細藻類試料をオイル成分分析評価や各種生理活性評価を実施するのに即した成分抽出手法、評価前処理手法を検討し、その手法を確定した。また、脂肪酸成分の評価には、別途でのアルカリ加水分解や GC 分析前処理手法を検討、確定して、実際に培養物の処理を実施した。

脂肪酸成分の分析では、GCMS を用いた脂肪酸成分の定性・定量分析手法の検討を行い、その手法を確定して、培養物の脂肪酸分析を実施した。

生活習慣病（糖尿病予防）評価系の構築、およびスクリーニングでは、GLP-1 分泌促進活性を保持する化合物を探索するためのスクリーニング系として、細胞が分泌する GLP-1 を認識する抗 GLP-1 抗体を用いた ELISA 系を構築した。この系を用いて、培養物のスクリーニングを実施した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

最も重要な、藻培養物の有用性を測るための評価方法（抽出手法から脂肪酸分析法、生活習慣病予防系評価方法）が確定したため、現在も継続している株の収集・培養が終了したものから随時、処理、評価を実施する。また、本評価にて、有用と認められた株をもって、活性成分の精製や培養検討を実施する。

②-3 「廃棄物（畜産廃水，養殖池廃水，し尿等）利用による培養法検討」

オーピーバイオファクトリー(株)

1. 目的

微細藻類・ラビリンチュラ類の最適な培養条件は株ごとに異なり、また、廃棄物・廃水の栄養成分も様々である。そこで、有用物質を生産する株を単独もしくは組み合わせて用い、最適な培養法を検討する。具体的には、(a) 廃棄物・廃水を高効率で利用し浄化能力が最大となる培養条件、及び (b) オイル、生理活性物質などの有用物質の生産が最大となる培養条件の確立を目指す。

2. 3年間の全体計画

人間活動に伴い陸域から海域に流入する有機物・栄養塩を高濃度に含む廃水・廃棄物は、種類・量共に多い。これらは沖縄の環境に大きな負荷を与える原因の一つとなっている。特に海洋環境への影響は大きく、沖縄の珊瑚礁やそこに生息する多様な生物への影響は多大である。そこで、これらの廃水・廃棄物をバイオマス資源としてとらえて逆に有効利用するため収集した微細藻類・ラビリンチュラ類の株などの培養に利用するとともに、廃水・廃棄物中に含まれる栄養塩濃度を低下させ、環境への負荷の軽減と環境浄化を図る。また、この際に得られる大量の菌体・藻体を新たなバイオマス資源として、食品・機能性食品素材、健康・医療品素材、工業化成品素材やエネルギー素材として利用し、資源的・経済的に過不足のない循環型社会システムの構築を目指す。

微細藻類・ラビリンチュラ類の最適な培養条件は、株ごとに異なる。また、廃水・廃棄物の栄養成分も多様である。そこで、これらの株を単独もしくは組み合わせて用い、最適な培養法を検討する。この際、必要があれば、微細藻類以外の微生物（糸状菌、放線菌、細菌）も利用する。

具体的な研究の流れとして、(a) 廃水・廃棄物を高効率で利用し、浄化能力が最大となる培養条件、及び (b) オイル、生理活性物質などの有用物質の生産が最大となる培養条件の確立を目指す。培養法の検討は実験室レベルで実施し、培養期間・培養温度・栄養条件などの培養条件を検討する。培養条件の検討は生産性が高くかつ生育が速い上位5株についての実施を目指す。

3. 平成23年度研究成果

可食原料に由来する産業廃棄物を優先して、候補となる廃棄物・廃水を調査した。これは、可食原料由来のように廃棄物の安全性が高いほうが、培養生産物の使用用途が広いと考えられたためである。

入手ルート調査の結果、株式会社りゅうせきより宮古島バイオエタノールプロジェクトの蒸留残渣液をご提供頂けることになった。この蒸留残渣液は成分が開示されていることから検討に用いやすく、またサトウキビ肥料としての有用性が確認されていることから、微細藻類・ラビリンチュラ類の生育にも適する可能性が高いと考える。

4. 考察（今後の課題と展望等）

今後は選択された株を用い、培養条件検討の予備試験を実施する予定である。

②-4 「有用微細藻類、ラビリンチュラ類のゲノム解析」

沖縄科学技術大学院大学

1. 目的

本研究は、有用性の高い機能性成分を産生する微細藻類株や高いオイル生産性を有するラビリンチュラ類株などのゲノムを解読し、ゲノム内でこれらの特殊機能を担う遺伝子あるいは遺伝子群を同定し、それらの遺伝子情報をもとに、機能性成分生成やオイル生産のより効率の良いシステムの開発を目指した研究を推進することを目的とする。

2. 3年間の全体計画

本研究においては、本研究開発に関わる他の研究グループ、すなわち須田グループ（琉球大学）、金本グループ（OP バイオファクトリー）、照屋グループ（琉球大学）によって単離・同定される予定の、有用性の高い機能性成分を産生する微細藻類株や、高いオイル生産性を有するラビリンチュラ類株などが得られた場合に、そのゲノムを沖縄科学技術大学院大学（OIST）の次世代シーケンサーを活用して解読し、ゲノム内でこれらの特殊機能を担う遺伝子あるいは遺伝子群を同定する。そしてそれらの遺伝子情報を、今後のオイル生産性の向上や機能性成分生産能の向上に生かせるような情報として提供し、さらに、できれば、産業技術総合研究所や北里大学などの協力を得て、異種発現技術による高付加価値産物の生産技術への展開の可能性を検討する。

3. 平成23年度研究成果

ゲノムの塩基配列の決定には純度の高いゲノム DNA を得ることが必須で、どれだけ高純度の DNA が得られるかがゲノム塩基配列の決定およびその後のバイオインフォマティク解析に大きく影響する。我々の研究グループとしては微細藻類やラビリンチュラ類の核酸の取り扱いが初めてであることもあり、まず金本グループからラビリンチュラ類 2 株を提供してもらい、DNA および RNA を通常の方法で抽出したところ、問題なく純度の高い核酸を得る事ができることを確かめた。しかしながらこのラビリンチュラ類 2 株とオイル生産との関係がまだ不明確なこともあって、この株の EST およびゲノム解析を行うことはせず、有用株が得られるまで解析を待つこととした。ところで、筑波大学の渡邊信教授らの研究グループは沖縄産のボトリロコッカスでオイル生産に有効な株を単離し、その大量培養を進めている。そこで、渡邊信教授および国立環境研究所の中嶋信美博士と共同研究で、ボトリロコッカス 1 株のゲノム解読および 3 株の EST 解析について共同研究を行うことで合意を得た。その後、中嶋信美博士からボトリロコッカス 1 株のゲノム DNA の送付を受け、現在ゲノム解読を進めているところである。

4. 考察（今後の課題と展望等）

本プロジェクト研究の目標設定から、我々の分担課題研究は他の共同研究グループの成果をまたなければならない状況にある。他の共同研究グループの本年度の成果としてようやく有効株が単離され出しているの、それを待って次年度にかけてさらに研究を推進したい。またボトリロコッカスのゲノムプロジェクトも開始早々でまだ十分な成果が上がっていない。これからできるだけ早く研究を軌道に乗せる予定である。

②-5 「育種、スケールアップ、抽出法に関する研究」

オーピーバイオフィクトリー(株)

1. 目的

生育速度が早く、有用な機能性成分の生産性が高い微細藻類・ラビリンチュラの株を選抜し、この株をスケールアップして培養する手法と、培養物から効率的に目的成分を抽出する方法を検討し確立する。少なくとも1株について、この検討を実施する。

2. 3年間の全体計画

生育速度が早く、有用な機能性成分の生産性が高い微細藻類・ラビリンチュラの株を選抜し、少なくとも1株について以下の検討を行う。

(a) 育種： 有用微細藻類、ラビリンチュラのゲノム情報を利用し、特定の物質を生産させるようなゲノム改変、生産遺伝子群の改変、もしくは培地組成（ビタミン添加等）・培養条件（光条件等）の変化により、生産性の向上を図る。

(b) スケールアップ： 育種による検討に加えて、屋内（フラスコレベル：10 L）から屋外（タンクレベル：100 L）まで検討し、生産性の向上を図る。

(c) 抽出法： バイオ燃料、有用物質などの最終的な目的に応じて検討する。同時に、スケールアップされた大量の培養液中から、細胞だけを効率的に回収する手法も検討する。

3. 平成23年度研究成果

大量培養及び大量培養物からの抽出法確立のための基礎データを得ることを目的とした予備検討を行った。②-1で収集された株のなかから選んだ株を用いる前に、比較的生育が早く、かつ指標となる特定の物質の生産が知られている基準株を用い、これをモデルとして予備検討に用いた。100 ml～10 Lスケールでのスケールアップ培養法を確立し、また生育に最適な培地を選択した後、特に大量培養では影響が大きい通気方法の検討を行った。具体的には、10 Lスケールで、bubbling、振とう、攪拌の3方法で通気条件を検討した。その結果、株の性質に合わせた通気方法を選択することで、10 Lスケールまでの培養手法を確立することができた。この予備検討を通して、ブローを用いたbubblingによる通気方法と、吸光度（分光光度計・プレートリーダーで測定）を用いた増殖量の評価方法を確立した。また、大量培養物の処理については、濾過助剤を用いることで、10 Lまでの培養物中の細胞を効率的に回収する手法を確立した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

本年度の予備検討の結果を用い、平成24年度は②-2で選択された株を用いて検討を行う予定である。

(2) 研究推進委員会

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」の円滑な推進を図るため、本事業に関する研究推進委員会設置要綱に従って5名の研究推進委員を委嘱するとともに、2回の研究推進委員会を開催した。研究推進委員会では、研究推進委員を中心として活発な意見交換が行われた。

研究推進委員及び研究推進委員会の議事要旨は、以下の通りである。

(2) - 1 研究推進委員

西山 繁 慶應義塾大学 理工学部 化学科 教授
原 敏夫 九州大学大学院 農学研究院 生命機能科学部門 准教授 (委員長)
比嘉 直人 (株) 沖縄エネテック エネルギー開発部 エネルギー開発グループ 課長
宮下 英明 京都大学大学院 人間・環境学研究科 准教授
矢木 修身 日本大学 生産工学部 生産工学研究所 教授

(2) - 2 第1回研究推進委員会

第1回 研究推進委員会 議事要旨

1) 日 時 平成23年10月25日(火) 13:25 - 17:00

2) 場 所 沖縄ポートホテル 2階「ベガ」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 (財) 沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
- ・研究推進委員紹介、委員長選出等 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 原 敏夫
- ・「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について 事業総括 平野 隆
- ・「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」の概要説明 研究統括 金本 昭彦
- ・各研究開発項目の研究計画と進捗状況 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 原 敏夫
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について

事業総括より、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」事業について、1)事業実施体制、2)共同研究事業、3)事業内連携体制の推進のそれぞれの観点から説明が行われた。

(2) 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」の概要説明

研究統括より、「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」事業について、1)提案の背景、2)各研究開発項目の実施体制及び研究概要、3)産業創生、クラスター形成のそれぞれの観点から説明が行われた。

(3) 研究開発項目の研究計画と進捗状況

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、各研究開発項目の目的、全体計画、平成 23 年度研究計画およびこれまでの進捗状況について説明が行われ、その後、質疑応答が行われた。

(4) 総合討論

総合討論では、研究課題全体に関わる課題について、質疑応答が行われた。

(2) - 3 第 2 回研究推進委員会

第 2 回 研究推進委員会 議事要旨

1) 日 時 平成 24 年 2 月 6 日 (火) 13:00 - 16:30

2) 場 所 沖縄ポートホテル 2 階「ベガ」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 (財) 沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
- ・研究推進委員紹介、委員長選出等 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 原 敏夫
- ・「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について 事業総括 平野 隆
- ・「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」の概要説明 研究統括 金本 昭彦
- ・各研究開発項目の本年度研究成果 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 原 敏夫
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について

事業総括より、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」事業について、説明が行われた。

(2) 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」の概要説明

研究統括より、「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」事業の概要について説明が行われた。

(3) 研究開発項目の本年度研究成果

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、各研究テーマの本年度研究成果について説明が行われ、その後、質疑応答があった。

(4) 総合討論

総合討論では、研究課題全体に関わる課題について、1) オイル生産微生物、微細藻類の収支について、2) オンサイト土壌浄化の観点からそれぞれ質疑応答が行われた。

(3) ネットワーク構築に向けた取り組み

「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」事業を推進するに当たっては、各研究実施機関では、共同研究事業を担当している研究機関同士の共同研究・連携はもとより、本事業を直接担当していない沖縄県内外の研究機関との共同研究・連携を図りながら研究を推進した。

共同研究契約に基づく共同研究機関数は、大学・独立行政法人・公設試等併せて 6 件、また、エネルギー関連企業等との共同研究数が、6 件、合計 12 件であった。

一方、連携機関では、独立行政法人 1 件、化学系企業やエネルギー関連企業等 6 件、合計 12 件であった。

当該研究テーマを推進するに当たっては、共同研究事業を担当している研究機関同士で意見交換をする機会を多く設け、相互の連携を図りながら推進した。

1) 共同研究機関 12 件

- ・大学・独立行政法人・公設試等 6 件
- ・民間企業 6 件

2) 連携機関 7 件

- ・大学・独立行政法人・公設試等 1 件
- ・民間企業 6 件

3-3 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」

研究開発項目①「メタボローム解析の技術開発と高度化」

- ①-1 「経皮吸収メタボローム解析研究開発」 (沖縄科学技術大学院大学)
- ①-2 「メタボローム解析比較による血液新規代謝・老化マーカー探索
と経皮吸収効果検証」 (京都大学 医学部)
- ①-3 「メタボローム解析の技術確立と ヒト吸収効率の研究」
(琉球大学大学院 医学研究科)

研究開発項目②「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」

- ②-1 「経皮吸収に適した沖縄産物候補の探索」 (ソムノクエスト(株))
- ②-2 「沖縄産素材を用いたナノ粒子の製造技術開発」 ((株)先端医療開発)

研究開発項目③ 「沖縄長寿・肥満家系の調査と 疫学ゲノム解析の研究」

(琉球大学大学院 医学研究科)

(1) 研究成果の概要

研究開発項目①：メタボローム解析の技術開発と高度化

①-1 「経皮吸収メタボローム解析研究開発」

沖縄科学技術大学院大学

1. 目的

沖縄の長寿を可能にしたものは何であろうか。今世紀において老化や長寿は健康科学の世界的な最重要課題の一つであり、長寿で知られる沖縄は、その優れた研究拠点となり得る。ヒト血液のメタボローム解析技術を確立し、新しい視点で沖縄の長寿の原因を探求する。さらに得られた知見を沖縄の健康・長寿産業の発展に役立たせるための基盤研究をしっかりと推進したい。

2. 3年間の全体計画

体内の細胞に酸素と栄養成分を供給するヒト血液のメタボローム解析技術を確立する。そして、経口および経皮によってヒト体内に取り込まれた、既知の有効成分の生理的効果のメタボローム検証が可能となるようにしたい。ヒト血液中にもモデル生物である微生物細胞（分裂酵母）にも含まれる既知の抗酸化性の防御コンパウンド（複数）の役割を、遺伝学的解析が容易なモデル生物の特性を生かして解明したい。ヒト血液中には未知のコンパウンドが多数あるので、それらの中で構造の同定が可能なものにチャレンジする。さらに被験者の年齢や老化度の違いによるコンパウンドの質と量の違いの発見とその解析も意欲的に調べたい。また、分裂酵母およびヒト血液サンプル両者で、飢餓や老化に影響するであろう低分子マーカー候補をメタボローム解析で同定を試みる。

3. 平成23年度研究成果

今年度はまず、ヒト血液メタボローム解析のためのサンプル調整方法やデータ解析手段の検討、改良を行った。当研究室で開発された解析ソフトウェア **MZmine 2** によって多くのコンパウンドの質量分析データを効率的に解析できるようになり、異なるサンプル間でのメタボライトの比較が可能となった。また、データの共用デポジットサイトを構築することでラボ内、グループ内部でのデータ交換および情報共有が容易になり、データ解釈のための頻繁な検討が可能となった。

これまでに30人以上の個人（高齢層と若年層）から血液を得て解析用試料を作製し、200以上のメタボローム質量分析の解析データを得てこれらを解析しているところである。個人差、同一個人における変化、高齢層と若年層の違い等を検討中である。

4. 考察（今後の課題と展望等）

ヒトの長寿に効果のあるコンパウンドは少数ではなく多数であろう。それらがどのような効果をもたらすかは個人差があり、人種差もあるかもしれない。しかし、ごく少数は、長寿に強い効果があるかもしれない。個人差、年齢差等の要素が未確定であるため、まだ何かを結論する前に被験者の数を増やしデータの解釈を行うことが必要である。生理実験（経口、経皮、絶食、その他）についても同様で、被験者ひとりではなく複数で行うことを前提として生理実験を引き続き行う予定である。一方で現在未知のコンパウンドを一つでも既知にできるような努力が必要である。分裂酵母で寿命に関連することが分かっている未知コンパウンドで、ヒト血液に共通に存在する

ものを同定することは特に重要である。また、伝統的に健康に良いとされている沖縄の有用食材の解析、経皮的に体内に入りやすい条件を検討物質で探すこと、レスベラトロールなどの効果が知られたものについてはさらに詳細なメタボローム解析を行うことなども今後の課題である。

①-2 「メタボローム解析比較による若年・高齢者の血液新規代謝・老化マーカー探索と既知物質の経皮吸収効果検証」

京都大学 医学部

1. 目的

本計画は、メタボローム研究に精通する沖縄科学技術大学柳田充弘教授らを代表として、そのメタボローム解析技術を駆使して、人血液サンプル分析にその技術を応用することにより、ヒト血液中の新規代謝マーカーや老化マーカーを探索すると共に、沖縄産物などに含まれるであろう、健康有効成分の吸収効率解析や、経皮吸収手法の確立による、沖縄産業創出への発展の足がかりとなるような基盤的研究の推進を目的とする。その中で、我々、京大病院老年内科近藤祥司グループは、特に、メタボローム解析により、若年者と高齢者の血液サンプルの比較を行い、血液中の新規代謝・老化マーカーの探索や、既知健康物質（レスベラトロールなど）を用いた経皮吸収効果の検討を行う。

2. 3年間の全体計画

若年者と高齢者の血清および細胞画分では、メタボローム・プロファイルが大きく異なり、特に赤血球でのメタボローム解析はほぼ未知のままである。本計画では、若年者と高齢者における飢餓と食後のサンプル比較・メタボローム解析により、新規の代謝マーカー・長寿マーカーの探索・解析を行う。

また既知のポリフェノール（レスベラトロールなど）を用いて、経皮吸収の方法、経皮吸収の場所、吸収持続時間、吸収後効果発現開始時間などを、経口と経皮でメタボローム比較検討し、最適かつ効果的方法を見出す。ヒトの個人差も大きいと考えられるので、ヒト検体もいくつか検討し、データ解析検討する。最終的には、沖縄産物の中で、有効と思われる健康産物（タンカンなど）の抽出物の経皮吸収による効果も判定・解析する。

3. 平成23年度研究成果

まず、血液サンプルを、絶食時と食後で採取し、フィコール画分により血清、赤血球の2分画を単離し、その血液サンプルを、沖縄科学技術大学院大学（OIST）にてメタボローム解析を行い、大きくそのプロファイルが異なることを確認した。今後、より正確に、しかも各地でサンプル採取を広げるため、最も、適切なサンプル調整法の確立が必要と判断し、我々は、文献検索も含め、検討を重ね、その条件確立に成功した。同時に、新規マーカー候補を探索中である。と同時に、様々な既知の健康低分子を吸収効率の検討を行い、レスベラトロールの吸収確認に成功した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

上記のような、足がかりとなる基礎データを獲得した。今後は、上記方法により、さらにヒト血液サンプルの規模拡大や、ヒト疾患への応用を視野にいれ、新規マーカーの同定や、経皮吸収効率の確立から応用を目指す。

①—3 「メタボローム解析の技術確立とヒト吸収効率の研究」

琉球大学大学院 医学研究科

1. 目的

糖尿病・肥満モデルマウスの血液や脂肪組織、視床下部などを試料とするメタボローム解析を行い、 γ オリザノールや低分子シャペロンの効果が実験動物でどのように評価可能か、基礎的な検討を実施します。当該分子群のナノ化標品が得られた段階で、実験動物に経皮的に投与し、その体内動態やメタボローム解析を行います（血液、視床下部、肝臓、尿など）。

2. 3年間の全体計画

私達、琉球大学医学部 第二内科 研究室において 既に動物実験で 検証済みの 抗糖尿病・抗肥満 生理活性物質を含めた候補分子群 のナノ化 および それらの経皮的吸収、体内動態について 種々の実験モデルマウスを用いて解析し、ヒトへの投与【臨床応用】を試みます。私達の研究室では 玄米の主要な成分のひとつである γ オリザノールが血糖降下作用や高脂肪食嗜好性を軽減することを最初に見出しており、また、小胞体ストレスの改善剤である低分子シャペロン、4PBA が抗肥満効果や抗脂肪肝効果、高脂肪食に対する嗜好性の軽減効果を有することを見出しております。これら、私達自身の手によって得られた新規の研究成績を踏まえ、当該分子群のナノ化標品を実験動物に経皮的に投与し、その体内動態やメタボローム解析を行います（血液、視床下部、肝臓、尿など）。動物モデルでの評価と検証（抗肥満効果、抗老化効果、抗糖尿病効果、抗血管病効果など）を経て、ヒトに対する経皮投与を試み、代謝改善効果に関して評価・分析を行います。当該研究を進めるに当たっては 琉球大学 倫理審査委員会の承認を早期に取得出来るよう準備を進めます。

3. 平成23年度 研究成果

マウスを用いた実験により、玄米の主要な成分のひとつである γ オリザノールが視床下部小胞体ストレスを軽減することによって高脂肪食に対する嗜好性が減弱することが初めて明らかとなりました。また、 γ オリザノールは膵臓 β 細胞に直接的に作用してインスリン分泌を促し、血糖降下作用を発揮することが初めて明らかとなりました。

4. 考察（今後の課題と展望等）

平成23年度の研究成果を踏まえ、現在、プロジェクトチームの（株）先端医療開発にナノ化 γ オリザノール物質の作成を依頼し、細胞への添加実験、マウスへの投与実験を開始する予定です。また、基礎的実験成果を踏まえ、ヒトに対するナノ化 γ オリザノール投与（経皮的投与、経口投与など）に伴う食の嗜好性変化、糖尿病改善効果を検証するとともに、メタボローム解析を実施すべく、琉球大学 倫理審査委員会の承認を取得する準備を進めてまいります。高脂肪食への嗜好性を変え、食行動の変容を促す新しいメカニズムの発見と、これを基盤とする新しい医療の開発は 日本屈指の肥満県、糖尿病県である沖縄県において最も必要なものであり沖縄県民の健康福祉の向上 のみならず、沖縄県発 の 新たな医療・健康産業化の突破口を開く可能性が期待できると考えております。

研究開発項目②：沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発

②-1 「経皮吸収に適した沖縄産物候補の探索」

ソムノクエスト(株)

1. 目的

本研究は、本提案事業の最終目標である健康長寿改善に有効な経皮吸収（パッチ型、パック型、直接塗布型、入浴剤型など）製品の試作に向けて、初年度は、沖縄県内で調達可能な沖縄産物の健康有効情報のプロファイリングを行う。手段として、生薬学・生薬化学的学術論文および民間療法や薬膳料理などから有効な沖縄産物および有効成分について調査研究し、パッチ型、パック型、直接塗布型経皮吸収の効率を上げるナノ化候補有効成分群と、入浴剤型経皮吸収に適した非ナノ化候補有効成分群に分類する。また、沖縄特有の経皮吸収補助基材の調査研究も行う。次年度以降は、製品の製造過程および使用時（特に風呂の温度など）における有効成分の熱安定性や揮発性成分の変動などの物性について生薬化学的実験を行い、その結果を試作品の製作企画に反映させる予定である。

2. 3年間の全体計画

パッチ型、パック型、直接塗布型、入浴剤型経皮吸収製品の各試作品の製作に結び付く沖縄県内で調達可能な沖縄産物の有効成分情報および安全かつ安定した品質の有効成分を提供する。有効成分は単離あるいは高濃度含有エキス仕様とし、 γ オリザノール、レスベラトロール以外にメタボ改善が期待されるウイキョウ由来のアネトール、食欲改善のニシヨモギ由来のシネオールなど最低10種以上を研究素材候補としている。

3. 平成23年度研究成果

- ①経皮吸収に適した物質特性を設定した。さらに、からだの部位により経皮吸収効率が大きく異なり、最も効率の良い方法は全身を暴露する入浴方法であることを提示した。
- ②上記の経皮吸収物質特性を満たす沖縄県産の健康長寿に関連する機能性成分情報とその効能などの情報をプロファイリングし、次のように優先順位に4群に分類した。
第1群：3素材、5成分（レスベラトロール、 γ -オリザノール、クルクミン）、
第2群：5素材、8成分、第3群：2素材、3成分、第4群：8素材、14成分
第2群のサクナの有効成分情報から、体内で γ -オリザノールと同様の代謝物質が産生されるため、その効果も γ -オリザノールと類似する可能性を示した。
- ③プロファイリング情報より経皮吸収効果が期待できるニシヨモギとクワンソウを選別し、メタボローム解析用にそれぞれエキス調製と成分分析をした。
- ④非ナノ化成分の新たな経皮吸収手段として「サウナ」と「お灸」を見出した。

4. 考察（今後の課題と展望等）

- ①経皮吸収素材候補であるニシヨモギとその他3種の沖縄県独自のヨモギの品種別による精油成分及びその他有効成分の成分比率を比較検討し、モニター試験への可否を決める。
- ②クワンソウおよびその他候補素材から同様の精油成分、その他の有効成分またはエキスを調製し、有効成分の構成および物性面からナノ化または非ナノ化候補成分に選別する。
- ③沖縄特有の経皮吸収補助基材の調査研究を行う。

②-2 「沖縄産素材を用いたナノ粒子の製造技術開発」

(株)先端医療開発

1. 目的

本研究は、経皮吸収による体内への取り込みにおけるメタボローム解析などに基づいて、疾病の予防や治療効果が期待できる有効成分のうち、沖縄県に特徴的な農水産物から抽出される有効成分の探索と、ナノ化による治療応用と健康増進へのための技術開発を行う事を目的としている。弊社では、健康長寿に有効であるポリフェノール（レスベラトロール）やウコンから抽出したクルクミンなどを封入した生体吸収性 PLGA ナノ粒子を作製し、最適なナノ粒子の製造条件を探索研究する。培養細胞を使った実験において、ナノ粒子は短時間内に高効率に導入され、細胞質内に安定して長期間（7日間以上）停留すること、ナノ粒子製剤化していない薬剤と比較し細胞内 DDS により長期間に渡り有効性が持続することをすでに明らかにしている。このような、ナノ粒子の DDS 機能を利用すれば、レスベラトロールやクルクミンを経皮吸収させることにより、同じ濃度のレスベラトロールやクルクミンに比べより高い有効性が得られることが期待される。さらに、経皮吸収型ナノ粒子製剤として、パッチ型、入浴剤、塗布剤などの製剤検討を行い、より最適なナノ粒子製剤の製造を目指す。さらに、健常人を用いた臨床研究を実施するために必要な各種テストや検査等を実施する。

2. 3年間の全体計画

沖縄の植物から抽出したレスベラトロールおよびクルクミン高含有率の PLGA ナノ粒子の製造を目指します。また、 γ オリザノールや 4-PBA 含有ナノ粒子の製剤検討を行い、高い封入率かつ狭い粒径分布の高品質なナノ粒子の製造を目指します。 γ オリザノールはステロールとのエステル体であるため、弊社のナノ粒子技術と相性が良いことが予想され、より高い封入率のナノ粒子の製造の成功が期待されます。また、最終的には経皮吸収型ナノ粒子製剤の試作開発まで実施する事を目的としているため、原料となるナノ粒子製剤に関しても安心・安全な製剤開発に注力していきます。

3. 平成23年度研究成果

本年度の研究目標は、スモールスケールでのナノ粒子の製造として、①PLGA ナノ粒子のサンプル作製（レスベラトロール、クルクミン ※共に和光純薬工業の試薬を使用）、②最適な溶媒の探索をおこなった。レスベラトロール封入 PLGA ナノ粒子作製に係る条件設定を行い、平均粒子径：300nm 前後のナノ粒子作製に成功した。クルクミン封入 PLGA ナノ粒子に関しては、320nm 前後のナノ粒子作製に成功した。



クルクミン封入 PLGA ナノ粒子
(平均粒子径 250nm)

4. 考察（今後の課題と展望等）

今年度作製した PLGA ナノ粒子は、封入率や放出性において単一の処方で作製されているが、次年度以降は目的によって PLGA の分子量や粒子径を検討することによって、適切な製剤設計を研究開発していく。

研究開発項目③： 沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析機の研究

琉球大学大学院 医学研究科

1. 目的

沖縄県に集積している重症肥満家系、重症糖尿病家系および 対照家系（健康長寿家系、健康痩せ家系など）をスクリーニングし、ゲノムサンプルの整備を進めると共に、疾患家系の代謝病態の解析、主に血液サンプルを用いたメタボローム解析を進めます。

2. 3年間の全体計画

沖縄県に集積している重症肥満家系や重症糖尿病家系の代謝学的背景を明らかにし、栄養過多や運動不足、過剰ストレス、生体リズム障害などの代謝・老化リスクに焦点を当てたスクリーニングを行います。ゲノムサンプルを整備し、血液や尿を試料とするメタボローム解析やエピゲノムの影響を評価できるクロマチン・シーケンスなどの手法を駆使して 病態把握とゲノム解析を進めます。これらの解析情報を踏まえ、特に、脳機能、脂肪組織機能、血管機能に焦点を当て、病態の重症化、難治化 の責任分子、責任メカニズム を絞り込みます。さらに、制御しがたい病的食欲を示す高度肥満家系・若年発症肥満家系を対象とした機能的（functional）MRI 検査を実施し、代謝背景やジェノム解析情報との関連性を分析します。

3. 平成 23 年度 研究成果

琉球大学医学部附属病院 第二内科で診療中の 重症肥満症患者、重症糖尿病患者 の中で、特に家系的集積を認める症例を中心に 臨床データベースの整備を進めております。対象患者に対して、琉球大学医学部附属病院 第二内科 が沖縄県内で唯一、保有し、運用 を進めている 先進的医療システム である 持続血糖モニターシステム（CGMS）と 最新鋭の グルコースクランプ装置を用いて血糖変動パターンやインシュリン抵抗性の評価 を進めるとともに 血管内皮機能の評価するFMD装置、大動脈脈波検査（PWV）装置を用いて 血管機能の評価 を進めています。また、琉球大学医学部 脳神経外科学講座 との連携により本年2月から機能的 MRI 検査が実施できる態勢が整い（琉球大学倫理審査委員会から承認されました）、病的食欲や食に対する認知機能のズレを画像解析によって評価するシステムを運用することが出来るようになりました。血液サンプルを用いたメタボローム解析に関しても 琉球大学 倫理審査委員会の承認を取得することが出来、3月以降、解析を開始できる見込みと なりました。ゲノム解析においては 琉球大学の 倫理審査委員会 におけるジェノム研究の承認を受けるべく準備中です。

4. 考察（今後の課題と展望等）

沖縄県における急速な健康長寿の崩壊 に関して 実態（病態）の解析と 原因の究明と打開策の考案 という2つの視点から 最新の解析ツールを駆使してアプローチするプロジェクトであり、沖縄県民の健康福祉の向上 のみならず、沖縄県発 の 新たな医療・健康産業化の突破口を開く可能性が期待できると考えております。

(2) 研究推進委員会

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」の円滑な推進を図るため、本事業に関する研究推進委員会設置要綱に従って6名の研究推進委員を委嘱するとともに、2回の研究推進委員会を開催した。研究推進委員会では、研究推進委員を中心として活発な意見交換が行われた。

研究推進委員及び研究推進委員会の議事要旨は、以下の通りである。

(2) - 1 研究推進委員

川上 浩司 京都大学 大学院医学研究科 教授
尚 弘子 琉球大学 名誉教授
杉林 堅次 城西大学 薬学部長 教授
塚本 芳昭 一般財団法人 バイオインダストリー協会 専務理事 (委員長)
徳永 勝士 東京大学 大学院医学系研究科 教授
堀沢栄次郎 マルホ株式会社 京都R&Dセンター 創造技術研究所 マネージャー

(2) - 2 第1回研究推進委員会

第1回 研究推進委員会 議事要旨

1) 日 時 平成23年11月22日(火) 13:30 - 17:00

2) 場 所 沖縄ポートホテル 2階「ベガ」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 (財)沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
- ・研究推進委員紹介、委員長選出等 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 塚本 芳昭
- ・「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について 事業総括 平野 隆
- ・「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の
新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」の概要説明 研究統括 柳田 充弘
- ・各研究開発項目の研究計画と進捗状況 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 塚本 芳昭
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について

事業総括より、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について、1)事業実施の背景、2)共同研究事業の実施体制、3)共同研究事業の推進のそれぞれの観点から説明が行われた。

(2) 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」の概要説明

研究統括より、＜医療・健康＞分野テーマの「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」について、1)提案の背景、2)

各研究開発項目の実施体制及び研究概要、3)産業創生、クラスター形成のそれぞれの観点から説明が行われた。

(3) 研究開発項目の研究計画と進捗状況

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、各研究開発項目の目的、全体計画、平成 23 年度研究計画、およびこれまでの進捗状況について説明が行われ、その後、質疑応答が行われた。

(4) 総合討論

総合討論では、研究課題全体に関わる課題について、質疑応答が行われた。

(2) - 3 第 2 回研究推進委員会

第 2 回 研究推進委員会 議事要旨

1) 日 時 平成 24 年 2 月 29 日 (水) 15:30 - 18:40

2) 場 所 沖縄ポートホテル 2 階「ベガ」

3) 議 事

- ・開会
- ・挨拶 (財) 沖縄科学技術振興センター 専務理事 兼 所長 米須 清光
- ・研究推進委員紹介、委員長選出等 事務局
- ・研究推進委員長挨拶 委員長 塚本 芳昭
- ・「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について 事業総括 平野 隆
- ・各研究開発項目の平成 23 年度研究成果 各研究実施機関
- ・総合討論 委員長 塚本 芳昭
- ・閉会

4) 議事概要

(1) 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について

事業総括より、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」について、1)事業実施の背景、2)共同研究事業の推進のそれぞれの観点から説明が行われた。

(2) 研究開発項目の平成 23 年度研究成果

プレゼンテーション資料に基づき、各研究機関の担当者より、各研究開発項目の平成 23 年度研究成果について説明が行われ、その後、質疑応答が行われた。

(3) 総合討論

総合討論では、研究課題全体に関わる課題について、質疑応答が行われた。

(3) ネットワーク構築に向けた取り組み

「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミッ
クな基盤的研究」事業を推進するに当たっては、各研究実施機関では、共同研究事業を担当して
いる研究機関同士の共同研究・連携はもとより、本事業を直接担当していない沖縄県内外の研究
機関との共同研究・連携を図りながら研究を推進した。

共同研究契約に基づく共同研究機関数は、大学・独立行政法人・公設試等併せて 7 件、また、
民間企業との共同研究数は、1 件、合計 8 件であった。

一方、連携機関数では、大学・独立行政法人・公設試等併せて 16 件、民間企業との連携は 3 件、
合計 19 件であった。

更に、共同研究事業を担当している研究機関相互の共同研究・連携については、平成 23 年度は
3 件であった。次年度は相互の共同研究・連携が更に活発化する見込みである。

1) 共同研究機関 8 件

- ・大学・独立行政法人・公設試等 7 件
- ・民間企業 1 件

2) 連携機関 19 件

- ・大学・独立行政法人・公設試等 16 件
- ・民間企業 3 件

3) 共同研究事業を担当している研究機関相互の共同研究・連携の状況

- ・沖縄科学技術大学院大学 (OIST) - 京都大学 医学部
- ・沖縄科学技術大学院大学 (OIST) - ソムノクエスト(株)
- ・琉球大学大学院 医学研究科 - (株) 先端医療開発

参 考 資 料

1. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」に関連する外部発表一覧
2. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業シンポジウム」 講演要旨

1. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」に関連する外部発表一覧

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」では、研究テーマ①「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築」、研究テーマ②「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」、研究テーマ③「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」の3つのテーマについて共同研究事業を推進しているが、平成23年度では、当該テーマに関連して、特許出願1件、新聞報道等（テレビ、ラジオ報道を含む）8件、誌上発表20件、口頭発表56件の外部発表を行った。

以下に、外部発表一覧を示す。

<事業全体>

（新聞報道等（テレビ、ラジオ報道含む）3件、誌上発表1件、口頭発表1件）

【新聞報道等（含テレビ、ラジオ報道）】

1. 生物資源産業化探る 知的クラスターシンポ
産学官研究の概要報告
琉球新報, 2011年12月21日
2. 「ベンチャー集積成長のエンジン 日経BP・宮田氏訴え
沖縄タイムス, 2011年12月24日
3. Snapshot（BioJapan2011 沖縄県産業振興公社ブースのスナップ）
日経バイオテク, 2011年10月24日

【誌上発表】

1. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」の目指すところ
岡 修一
南方資源利用技術研究会誌, 27(1), (2012)

【口頭発表（含ポスター発表）】

1. 沖縄県におけるゲノム研究基盤の構築 「先端ゲノム」および「知的クラスター」事業
平野 隆
ゲノムテクノロジー第164委員会 沖縄分科会（那覇）, 2012年1月25日

<生物資源の活用>

（新聞報道等（テレビ、ラジオ報道含む）1件、誌上発表7件、口頭発表16件）

【新聞報道等（含テレビ、ラジオ報道）】

1. ワールドビジネスサテライト
オーピーバイオファクトリー(株) 金本昭彦 他
グローバルナビフロント, TBS テレビ, 2011年8月20日

【誌上発表】

1. Loss of genes for DNA recombination and repair in the reductive genome evolution of thioautotrophic symbionts of Calyptogena clams
Hirokazu Kuwahara, Yoshihiro Takaki, Shigeru Shimamura, Takao Yoshida, Taro Maeda, Takekazu Kunieda and Tadashi Maruyama
BMC Evolutionary Biology, 11(1), 285 (2011)
2. 深海化学合成共生細菌のゲノムと共生の進化
丸山 正、高木善弘、吉田尊雄
生物の科学 遺伝, 65(6), 35 (2011)
3. Forming a tough shell via an intracellular matrix and cellular junctions in the tail of *Oikopleura dioica* (Chordata: Tunicata: Appendicularia).
Keisuke Nakashima, Atsuo Nishino, and Euichi Hirose
Naturwissenschaften, 98(8), 661-669 (2011)
4. JBIR-56 and JBIR-57, 2(1H)-pyrazinones from a marine sponge-derived *Streptomyces* sp. SpD081030SC-03.
Keiichiro Motohashi, Kennichi Inaba, Shinichiro Fuse, Takayuki Doi, Miho Izumikawa, Shams Tabrez Khan, Motoki Takagi, Takashi Takahashi and Kazuo Shin-ya
J. Nat. Prod., 74, 1630-1635 (2011)
5. S Naphthoquinone-like polyketide isolated from *Streptomyces* sp. RI-77 and its predicted biosynthetic pathway.
Miho Izumikawa, Ryutaro Satou, Keiichiro Motohashi, Aya Nagai, Yasuo Ohnishi, Motoki Takagi and Kazuo Shin-ya.
J. Nat. Prod., 74, 2588-2591 (2011)
6. A new cyclizidine analog—JBIR-102—from *Saccharopolyspora* sp. RL78 isolated from mangrove soil.
Miho Izumikawa, Takahiro Hosoya, Motoki Takagi and Kazuo Shin-ya
J. Antibiot. in press
7. Salinity increases the triterpenoid content of a salt secretor and non-secretor mangroves
Mohammad Basyuni
Aquatic Botany, 97, 17-23 (2012)

【口頭発表 (含ポスター発表)】

1. Genome sequence of an Intracellular Bacterial Symbiont in a Deep-sea Calyptogena Clam - Reductive Genome Evolution of Calyptogena clam symbionts.
Takao Yoshida, Yoshihiro Takaki, Shigeru Shimamura, Masatoshi Tsukahara, Nezu Maiko, Mariko Shimoji, Tadashi Maruyama
SMBE2011 the Annual Meeting of Society for molecular Biology and Evolution in 2011,
2011年7月28日
2. Population genomics of the chemoautotrophic endsymbiont in Calyptogena clams.
Yoshihiro Takaki, Takao Yoshida, Shigeru Shimamura, Masatoshi Tsukahara, Maiko, Nezu, Morimi Teruya, Shimoji Makiko, and Tadashi Maruyama

SMBE2011 the Annual Meeting of Society for molecular Biology and Evolution in 2011,
2011年7月28日

3. ナギナタシロウリガイ細胞内共生菌のゲノム解析とそのゲノム縮小進化
吉田尊雄、高木善弘、島村繁、塚原正俊、鼠尾まい子、下地真紀子、丸山 正
第84回日本生化学大会（京都），2011年9月24日
4. シロウリガイ類共生細菌種間でのヌクレオチド除去修復遺伝子の欠失過程-共生細菌ゲノム縮小進化との関連-
金子隆司、島村 繁、丸山 正、吉田尊雄
ブルーアース12（東京），2011年2月22日
5. シロウリガイ類共生細菌種間でのNER 関連遺伝子の欠失過程と共生細菌ゲノム縮小進化
島村 繁、金子隆司、丸山 正、吉田尊雄
第6回日本ゲノム微生物学会年会（東京），2011年3月10日
6. シンカイヒバリガイの免疫機構の解明に向けた抗血液細胞モノクローナル抗体の作製
関根大介、大石和恵、中村欽光、本郷悠貴、多米晃裕、吉田尊雄、中澤正年、三宅裕志、丸山 正
日本比較免疫学会第23回学術集会（横浜），2011年8月21日
7. 高度好塩性古細菌が生産する好塩性酵素の解析
嶋根康弘，峯岸宏明，越後輝敦，大田ゆかり，下重裕一，小西正朗，長野由梨子，森 梢，山内祐斗，秦田勇二
極限環境生物学会年会（長崎），2011年11月27日
8. 熱帯樹木オオバイヌビワのイソプレン合成と放出特性
高嶺朝典
日本農芸化学会西日本支部・中四国支部合同大会（宮崎），2011年9月17日
9. 熱帯樹木のイソプレン合成と放出の放出特性
屋 宏典
日本生態学会・自由集会（大津），2012年3月17日
10. 沖縄生物資源へのゲノムアプローチ -沖縄県ならびに琉球大学における取り組みの現状について-
新里尚也
ゲノムテクノロジー第164委員会 沖縄分科会（那覇），2012年1月25日
11. 抗菌活性を有する亜熱帯性微生物のゲノム科学的解析
戸田智美，小山芳典，梅村舞子，小池英明，町田雅之
第11回糸状菌分子生物学コンファレンス（東京），2011年11月16日
12. Ion Torrent PGM によるシーケンスデータの特性と全ゲノム解析
照屋盛実（工業技術センター）、照屋邦子、佐藤万仁、下地真紀子、保日奈子、小林靖尚、平野隆（科学技術振興センター）
第9回国際ゲノム会議（東京），2011年7月12日
13. 5500xl システム データ特性と全ゲノム解析
照屋邦子、佐藤万仁、下地真紀子、保日奈子、小林靖尚、寺林靖宣、平野隆（沖縄科学技術振興センター）、照屋盛実（沖縄県工業技術センター）
第34回 日本分子生物学会（横浜），2011年12月14日
14. 5500xl SOLiD リードを用いた *de novo* アセンブリ

佐藤万仁、照屋邦子、下地真紀子、保日奈子、小林靖尚、平野 隆（沖縄科学技術振興センター）、
照屋盛実（沖縄県工業技術センター）

第 34 回 日本分子生物学会（横浜）, 2011 年 12 月 14 日

15. 次世代シーケンサーによるデータの適切な前処理へ向けた SOLiD5500xl を使用した検討
寺林靖宣、佐藤万仁、照屋盛実、照屋邦子、下地真紀子、保日奈子、小林靖尚、平野 隆

BIWO2011（東京）, 2012 年 1 月 26 日

16. 次世代シーケンサー SOLiD5500xl の特性を活用したゲノム解析

寺林 靖宣、下地 真紀子、保 日奈子、照屋 邦子、小林 靖尚、佐藤 万仁、照屋 盛実¹、養王田
正文²、平野 隆（沖縄科技セ、¹沖縄県工技セ、²東京農工大・院工）

日本農芸化学会（京都）, 2012 年 3 月 24 日

<環境・エネルギー>

（新聞報道等（テレビ、ラジオ報道含む）2 件、口頭発表 9 件）

【新聞報道等（含テレビ、ラジオ報道）】

1. ワールドビジネスサテライト

オーピーバイオファクトリー(株) 金本昭彦 他

グローバルナビフロント, TBS テレビ, 2011 年 8 月 20 日

2. 揮発性の有機塩素化合物短期間で塩素除去

養王田正文

日刊工業新聞, 2011 年 10 月 28 日

【口頭発表（含ポスター発表）】

1. 揮発性有機塩素化合物分解デハロココイデス集積培養系の構築とゲノム解析

養王田正文

第 17 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会（川崎）, 2011 年 6 月 17 日

2. 揮発性有機塩素化合物分解デハロココイデス集積培養系の構築とゲノム解析

養王田正文

環境バイオテクノロジー学会 2011 年度大会（東京）, 2011 年 6 月 20 日

3. 次世代シーケンサーを用いた塩化エテン類分解デハロココイデス培養系の解析

北嶋瑞樹

第 63 回生物工学会大会（東京）2011 年 9 月 27 日

4. 揮発性有機塩素化合物分解微生物の分離と分解挙動

柴崎淳二

第 63 回生物工学会大会（東京）, 2011 年 9 月 28 日

5. Identification of a Dehalococcoides strain that has reductive dehalogenases for
trichloroethene and vinyl chloride and can dechlorinate trichloroethene to ethene

養王田正文

International Union of Microbiological Society 2011 Congress（札幌）, 2011 年 9 月 9 日

6. 次世代シーケンサーを用いたメタン発酵複合微生物群の菌叢解析

武知文音

日本分子生物学会第34回年会（横浜），2011年12月14日

7. 次世代DNAシーケンサーSOLiD 3を用いた新規 *Dehalococcoides* 属細菌の発見と解析
坂口理歩

日本分子生物学会第34回年会（横浜），2011年12月14日

8. Possible application and taxonomy of *Eutreptiella* sp. (Euglenophyta) from Okinawajima Island, Japan

Danang Ambar Prabowo, Shoichiro Suda

The 6th Asian Pacific Phycological Forum (Yeosu, Korea), 2011年10月10日

9. Fatty acids analysis of *Eutreptiella* sp. from Okinawajima Island and the possibility of a new phototaxis-based microalgae harvesting method

Danang Ambar Prabowo, Shoichiro Suda

The 8th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (2011 ECS Workshop) (Okinawa), 2011年11月24日

<医療・健康>

（特許出願 1 件，新聞報道等（テレビ、ラジオ報道含む）2 件，誌上発表 12 件，口頭発表 30 件）

【特許出願等】

1. 高脂肪食への嗜好性を軽減させるための医薬組成物、飲食品組成物または飲食品添加物
益崎裕章
特許出願，2012年1月16日（琉球大学）

【新聞報道等（含テレビ、ラジオ報道）】

1. アンチエイジング特集
近藤祥司
ABCラジオ健やかライフ10周年記念番組（30分），2011年7月25日放送
2. アンチエイジング（2）自分を知って楽になる
近藤祥司
読売新聞全国版「はつらつ健康指南」，2011年8月19日

【誌上発表】

1. Identification of Genes Affecting the Toxicity of Anti-Cancer Drug Bortezomib by Genome-Wide Screening in *S.pombe*
Kojiro Takeda, Ayaka Mori, and Mitsuhiro Yanagida
PLoS One, 6 (7), e22021 (2011)
2. Epigenetic displacement of HP1 from heterochromatin by HIV-1 Vpr causes premature sister chromatid separation
Mari Shimura, Yusuke Toyoda, Kenta Iijima, Masanobu Kinomoto, Kenzo Tokunaga, Kinya Yoda, Mitsuhiro Yanagida, Tetsutaro Sata, and Yukihiro Ishizaka
JCB, 194(5), 721-35 (2011)

3. Implications for proteasome nuclear localization revealed by the structure of the nuclear proteasome tether protein Cut8.
K. Takeda, Tonthat, N. K., Glover, T., Xu, W., Koonin, E. V., Yanagida, M. and Schumacher, M. A.
Proc Natl Acad Sci U S A, 108(41) 16950-16955 doi: 10.1073/pnas.1103617108 (2011)
4. The reverse, but coordinated, roles of Tor2 (TORC1) and Tor1 (TORC2) kinases for growth, cell cycle and separate-mediated mitosis in *Schizosaccharomyces pombe*
Ikai, N. and Nakazawa, N. and Hayashi, T. and Yanagida, M.
Open Biology, 1 (3) , 110007-110007 doi:10.1098/rsob.110007 (2011)
5. Nutrient limitations alter cell division control and chromosome segregation through growth-related kinases and phosphatases
Yanagida, M., Ikai, N., Shimanuki, M. and Sajiki, K.
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 366(1854), 3508-3520 doi:10.108/rsb.2011.0124 (2011)
6. Opposing role of condensin hinge against replication protein A in mitosis and interphase through promoting DNA annealing
Yuko Akai, Yumiko Kurokawa, Norihiko Nakazawa, Yuko Tonami-Murakami, Yuki Suzuki, Shige H. Yoshimura, Hiroshi Iwasaki, Yoshiharu Shiroyiwa, Takahiro Nakamura, Eri Shibata and Mitsuhiro Yanagida
Open Biology, 10.1098/rsob.110023 (2011)
7. MicroRNAs Regulate Key Effector Pathways of Senescence.
Andrea Feliciano, Beatriz Sánchez-Sendra, Hiroshi Kondoh, and Matilde E. LLeonart
Journal of Aging Research, (2011)
8. 老化と癌化の接点；古くて新しい課題、ストレス老化シグナル
近藤祥司、横出正之
医学の歩み, 2011年10月 第5土曜特集号 239, p337-342 (2011)
9. 老化はなぜ進むのか？老化研究とアンチエイジング医療の取り組み
近藤祥司
日本創傷・オストミー・失禁管理学会誌
15巻4号 (2011) (12月刊行)
10. 肥満症の内分泌学的解析
益崎裕章
日本内科学会雑誌 (日本内科学会) , 100, 2638-2645 (2011)
11. メタボリックシンドローム：肥満症診療における最近のトピックス
益崎裕章、平良 伸一郎、池間 朋己、山川 研、島袋 充生
Cardiovascular Frontier (メデイカル レビュー社), 2, 20-28 (2011)
12. 日本屈指のメタボ県・沖縄を健康”愛“ランドへ
～ 脂肪を希望に換える プロジェクト！ 琉球大学 医学部 が取り組む
健康長寿社会 復興のための 先進的取り組み ～
益崎 裕章
琉大ニューズレター, 12, 2-3 (2011(9))

【口頭発表 (ポスター発表含む)】

1. Protein dephosphorylation that restrains cell division under limited glucose
柳田充弘
EMBO Conference series: Europhosphatases 2011(ウィーン), 2011年7月21日
2. Protein phosphatase regulators are essential for cellular quiescence in *S.pombe*
Kenichi Sajiki, Yuria Tahara and Mitsuhiro Yanagida
EMBO Conference series: Europhosphatases 2011(ウィーン), 2011年7月18日~23日
3. Identification of Genes Affecting the Toxicity of Anti-Cancer Drug Bortezomib by Genome-Wide Screening in *S.pombe*
武田鋼二郎、森礼郁、柳田充弘
第44回酵母遺伝学フォーラム(福岡), 2011年9月5日~7日
4. オーロラキナーゼによりリン酸化された分裂酵母コンデンシンはM期全期を通じて染色体分配に必須である
中沢宜彦、Rajesh Mehrotra、江部正弘、柳田充弘
第44回酵母遺伝学フォーラム(福岡), 2011年9月5~7日
5. Top2 and Condensin: Their Similar Role in Mitosis
柳田充弘
TOPO 2011 (台北), 2011年10月13日
6. Fission Yeast Condensin is Continuously Required Till Telophase in the Mode Distinct from Topoisomerase II
中沢宜彦、Rajesh Mehrotra、江部正弘、柳田充弘
TOPO2011 (台北), 2011年10月12日~16日
7. Nutrient limitations alter cell division control and chromosome segregation through growth-related kinases and phosphatases
柳田充弘
The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (沖縄), 2011年10月26日
8. Pleiotropic phenotype of temperature-sensitive mutant cells of Ttil, a common partner of PIKK family proteins
Takeshi Hayashi, Mitsuko Hatanaka, Nobuyasu Ikai, Junko Kanoh and Mitsuhiro Yanagida
The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (沖縄), 2011年10月23日~27日
9. Condensin phosphorylated by aurora B-like Ark1 is continuously required till telophase in the mode distinct from Top2
Norihiro Nakazawa, Rajesh Mehrotra, Masahiro Ebe and Mitsuhiro Yanagida
The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (沖縄), 2011年10月23日~27日
10. Metabolomic analysis of stochastic division and quiescence under limited glucose
Tomas Pluskal, Takeshi Hayashi, Shigeaki Saitoh, Asuka Fujisawa and Mitsuhiro Yanagida
The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (沖縄), 2011年10月23日~27日

11. Protein phosphatase regulators are essential for cellular quiescence in *S. pombe*
Kenichi Sajiki, Yuria Tahara and Mitsuhiro Yanagida
The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (沖縄),
2011年10月23日～27日
12. Implications for proteasome nuclear localization revealed by the structure of the nuclear
proteasome tether protein Cut8
Kojiro Takeda, Namk. Tonthat, Tiffany Glover, Weijun Xu, Eugene V. Koonin and Mitsuhiro
Yanagida
The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (沖縄),
2011年10月23日～27日
13. Clearing Mitosis and the Role of Condensin
柳田充弘
Peking University Medical School Special Talk (北京), 2011年12月1日
14. New Sciences for aging and longevity
柳田充弘
Peking University Main Campus Special Talk (北京), 2011年12月3日
15. Approaches for Human Longevity and Aging using Fission Yeast
柳田充弘
Molecular Biology of Yeast International Conference, YEAST2011 (ボンベイ),
2011年12月10日
16. The nuclear proteasome tethering factor Cut8 directly binds to the nuclear envelope through
14-3-3-like structure
Kojiro Takeda, Nam K, Tonthat, Tiffany Glover, Weijun Xu, Eugene V. Koonin, Mitsuhiro
Yanagida and Maria Schumacher
第34回分子生物学会年会 (横浜), 2011年12月13日～16日
17. 染色体分配制御因子の働きは細胞の栄養環境により調節されるのか?
中沢宜彦、猪飼信康、Alejandro Villar-Briones、林武志、柳田充弘
第29回染色体ワークショップ (仙台), 2012年1月25日～27日
18. CENP-A局在化に必須な Mis18 複合体の新規構成因子の同定
林武志、長尾恒治、國分綾、江部正弘、藤田陽太、柳田充弘
第29回染色体ワークショップ (仙台), 2012年1月25日～27日
19. Approaches for Human Longevity and Aging using Fission Yeast
柳田充弘
東京都医学総合研究所都学研セミナー (東京), 2012年2月15日
20. コンデンシンの役割と除去マイトシスについて
柳田充弘
理化学研究所セミナー (埼玉), 2012年2月16日
21. アンチエイジング外来での骨粗鬆症治療の取り組み
近藤祥司
乙訓医師会学術講演会 (京都), 2011年10月1日
22. 遺伝子から見た老化 老化から診る生活習慣病

- 近藤祥司
第8回アンチエイジング静岡フォーラム（静岡）, 2011年11月11日
23. ストレス老化シグナルによる解糖系酵素制御誘導する癌化バリアー形成
近藤祥司
千葉大学医学部招待講演（千葉）, 2011年11月18日
24. 老化はなぜ進むのか？
近藤祥司
神戸学院大学特別講義（神戸）, 2011年12月10日
25. 老化はなぜ進むのか？遺伝子から見た老化と老化から診る生活習慣病
近藤祥司
第25回日本冠疾患学会学術集会 コーヒーブレイクセミナー（大阪）, 2011年12月17日
26. 長寿の科学が拓く 21世紀的医療へ
近藤祥司
第7回老化とアンチエイジング研究会（京都）, 2012年1月21日
27. ストレス老化シグナルによる解糖系酵素分子制御の誘導する癌化バリアー形成
近藤祥司
京大放生研セミナー（京都）, 2012年2月24日
28. 現代沖縄型 食・ライフスタイルがもたらす 食の嗜好性変化 のメカニズム
益崎裕章
第32回日本肥満学会 シンポジウム9（淡路）, 平成23年9月24日
29. あなたの脂肪を希望に変えるヒント：日本屈指の肥満県・糖尿病県、沖縄に健康長寿 を復興させる 私達の 新しい取り組み
益崎裕章
第53回全日本病院学会 年次学術集会（沖縄）, 平成23年10月29日
30. 肥満症の内分科学的解析
益崎裕章
第108回日本内科学会 講演会（横浜）, 平成23年11月13日

2. 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業シンポジウム」講演要旨

特別講演

沖縄における知的・産業クラスター形成への期待

日経BP社 宮田 満

口頭発表

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」

- ・事業概要……………93
事業総括 (財) 沖縄科学技術振興センター 平野 隆

<生物資源の活用> : 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」

- ・共同研究事業の概要……………94
研究統括 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也
- ・難培養共生微生物へのゲノムアプローチ……………95
琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也
- ・未利用真菌のゲノム解析と有用物質生産に関連する遺伝子の解明……………96
(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 小池 英明
- ・生合成遺伝子を利用した化合物生産技術の開発と天然化合物ライブラリーの構築……………97
(独) 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 新家 一男

<医療・健康> : 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」

- ・共同研究事業の概要……………99
研究統括 沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘
- ・ヒト血液メタボローム解析の技術開発と高度化……………100
沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘
- ・アンチエイジング医療と新しい老化・代謝マーカーの探索……………101
京都大学 医学部 近藤 祥司
- ・食の嗜好性に関わる新しい脳内メカニズム解明と肥満症に対する医学応用……………102
琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座 (第二内科)
益崎 裕章

<環境・エネルギー> : 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」

- ・共同研究事業の概要……………103
研究統括 オーピーバイオファクトリー (株) 金本 昭彦
- ・微細藻類を用いたバイオ燃料生産……………104
(株) デンソー 基礎研究所 藏野 憲秀
- ・沖縄の海洋藻類に含まれる活性物質の探索……………105
琉球大学 教育学部 照屋 俊明
- ・次世代DNAシーケンサーによる揮発性有機塩素化合物分解微生物コンソーシアの解析とバイオレメディエーションへの利用……………106

ポスター発表

<事業の概要>

- P01 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」
事業概要 107
事業総括 (財) 沖縄科学技術振興センター 平野 隆
- P02 <生物資源の活用> : 「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」
共同研究事業の概要 108
研究統括 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也
- P03 <医療・健康> : 「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」
共同研究事業の概要 109
研究統括 沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘
- P04 <環境・エネルギー> : 「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」
共同研究事業の概要 110
研究統括 オーピーバイオフィクトリー (株) 金本 昭彦

<生物資源の活用>

- P05 ホヤ類のセルロース合成系の解析 111
沖縄科学技術大学院大学 マリングェノミックスユニット 中島 啓介、佐藤 矩行
- P06 OISTでの放線菌ゲノム解析 112
沖縄科学技術大学院大学 シーケンシングセクション, マリングェノミックスユニット
藤江 学、宇佐美 剛志、小柳 亮
- P07 深海性二枚貝シロウリガイ類の細胞内共生細菌のゲノム縮小に関する研究 113
(独) 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域
吉田 尊雄、高木 善弘、島村 繁、丸山 正
- P08 鯨骨生物群集へ共生する微生物のゲノム解析 114
1. 独立行政法人 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域、2. 沖縄県工業技術センター、3. 沖縄科学技術大学院大学 マリングェノミックスユニット
高木 善弘¹、津田 美和子¹、照屋 盛実²、吉田 尊雄¹、島村 繁¹、宮崎 征行¹、佐藤 矩行³、丸山 正¹
- P09 海洋環境からの有用酵素資源の探索 115
1 独立行政法人 海洋研究開発機構、2 東洋大学理工学部
鳴根 康弘¹、峯岸 宏明²、秦田 勇二¹、大田 ゆかり¹、越後 輝敦²、西 真郎¹、宇佐美 論、2、丸山 正¹
- P10 微生物共生系を用いた細胞内共生機構の解明 116
琉球大学 熱帯生物圏研究センター 荻村 英雄、新里 尚也
- P11 難培養有用微生物の利用技術開発 117
琉球大学 熱帯生物圏研究センター

- 砂川春樹、齋藤星耕、長濱秀樹、青山洋昭、新里 尚也
- P12 熱帯樹木のイソプレン合成と放出の特性 …………… 118
琉球大学 熱帯生物圏研究センター
マングローブ生物学部門・遺伝資源応用分野 屋 宏典
- P13 亜熱帯微生物資源ライブラリーからの有用機能性探索 …………… 119
オーピーバイオフィクトリー(株) 金本 昭彦
- P14 沖縄由来の海洋生物および特異環境土壌由来の微生物が持つ二次代謝産物生産能
(有用遺伝子取得法の開発の一環としての微生物および二次代謝産物取得) …………… 120
(独) 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 新家 一男
- P15 未利用真菌のゲノム解析と有用物質生産に関連する遺伝子の解明 …………… 121
(独) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 小池 英明
- P16 PHB貯蔵細菌の3HB放出に関与する遺伝子の探索 …………… 122
沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班 / (財) 沖縄科学技術振興センター
照屋 盛実、ウグチャールズ ウチェンナ、常盤 豊、世嘉良 宏斗、照屋 正映
、市場 俊雄 / 下地 真紀子、保 日奈子、照屋 邦子、佐藤 万仁、
小林 靖尚、寺林 靖宣、平野 隆
- P17 5500xlSOLiDシステムのデータ特性と全ゲノム解析 …………… 123
(財) 沖縄科学技術振興センター / 沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
照屋 邦子、佐藤 万仁、下地 真紀子、保 日奈子、小林 靖尚、寺林 靖宣、
平野 隆 / 照屋 盛実
- P18 5500xl SOLiDリードを用いた*de novo*アセンブリ …………… 124
(財) 沖縄科学技術振興センター / 沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
佐藤 万仁、照屋 邦子、下地 真紀子、保 日奈子、小林 靖尚、寺林 靖宣、
平野 隆 / 照屋 盛実

<医療・健康>

- P19 Metabolomic comparison of human blood and fission yeast as a tool of
longevity research …………… 125
¹ Graduate School of Biostudies, Kyoto University ²G0 Cell Unit, Okinawa Institute
of Science and Technology Graduate University ³ Department of Geriatric Medicine,
Graduate School of Medicine, Kyoto University
Romanas Chaleckis¹, Tomáš Pluskal², Ebe Masahiro², Hiroshi Kondoh³
and Mitsuhiro Yanagida²
- P20 アンチエイジング医療と新しい老化・代謝マーカーの探索 …………… 126
京都大学 医学部 加齢医学講座 近藤 祥司
- P21 食の嗜好性に関わる新しい脳内メカニズム解明と肥満症に対する医学応用 …………… 127
琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座 (第二内科)
益崎 裕章

<環境・エネルギー>

- P22 次世代シーケンサーを用いたメタン発酵複合微生物群の菌叢解析 …………… 128

¹東京農工大学、²沖縄県工業技術センター、³トロピカルテクノセンター、
⁴沖縄科学技術振興センター
 武知 文音¹、北嶋 瑞樹¹、照屋 盛実²、塚原 正俊³、鼠尾 まい子³、下地 真紀子³、
 佐藤 友紀⁴、照屋 邦子⁴、宮原 弘子⁴、喜久里 育也⁴、城間 安紀乃⁴、佐藤 万仁⁴、
 養王田 正文¹

P23 次世代DNAシーケンサーSOLiD 3を用いた新規*Dehalococcoides*属細菌の発見
 と解析 …………… 129

¹東京農工大学、²PaGE Science、³沖縄県工業技術センター、
⁴トロピカルテクノセンター、⁵沖縄科学技術振興センター
 坂口 理歩¹、北嶋 瑞樹¹、田村 紀義²、岩本 めぐみ²、照屋 盛実³、塚原 正俊⁴、
 鼠尾 まい子⁴、下地 真紀子⁴、佐藤 友紀⁵、照屋 邦子⁵、宮原 弘子⁵、
 喜久里 育也⁵、城間 安紀乃⁵、佐藤 万仁⁵、養王田 正文¹

P24 沖縄の沿岸および汽水域からのラビリチュラ類の収集 …………… 130
 琉球大学 理学部 平石 皇志、瀬戸 雄飛、Faria, D. G.、須田 彰一郎

P25 沖縄のガードレール着生陸生藻類について …………… 131
 琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 大庭 章裕、須田 彰一郎

P26 沖縄の陸生ラン藻類の収集 …………… 132
 琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 澄本 慎平、須田 彰一郎

P27 那覇市国場川におけるラビリチュラ類について …………… 133
 琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系 瀬戸 雄飛、須田 彰一郎

P28 沖縄の海洋藻類に含まれる活性物質の探索 …………… 134
 琉球大学 教育学部 照屋 俊明

P29 インシュリン分泌を惹起するGLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 分泌促進活性
 を持つ天然物のスクリーニング …………… 135
 ファルマフロンティア株式会社 秋山 清隆、
 オーピーバイオファクトリー株式会社 金本 昭彦

<ネットワークの形成> (P30-P39 の発表については、発表演題のみ掲載)

P30 次世代シーケンサを用いた、発達遅滞を伴う小眼球症の原因遺伝子変異特定と
 診断システムの確立
 琉球大学大学院 医学研究科 遺伝医学講座 要 匡、柳 久美子、成富 研二

P31 生産力向上を目指したパパイアとニガウリのゲノム解析
 沖縄県農業研究センター 浦崎 直也

P32 ミトコンドリアDNA非コード領域における琉球在来豚アグーの母系解析
 沖縄県畜産研究センター、¹⁾独立行政法人農業生物資源研究所、
²⁾(社)農林水産先端技術産業振興センター 農林水産先端技術研究所
 當眞 嗣平、島袋 宏俊、美川 智¹⁾、奥村 直彦²⁾

P33 ミッドカイン(MK)を指標とした抗腫瘍活性スクリーニング
 ～海洋天然物ライブラリを用いて～
 沖縄工業高等専門学校 専攻科創造システム工学専攻 生物資源工学コース
 祖納元りえ、山城 知佳、高石 花蓮、池松 真也

- オーピーバイオフィクトリー株式会社 藤原 健史、石見 盛太、金本 昭彦
- P34 次世代シーケンサーを利用したミッドカインファミリーの発現解析
～次世代シーケンサーの優位性～
¹ 沖縄工業高等専門学校 生物資源工学科、
² 名古屋大学大学院 医学系研究科 生物化学講座、³ 千葉県がんセンター
天久 隆貴¹、喜屋武 竜一¹、坪田 庄真²、岸田 聡²、中川原 章³、
門松 健治²、池松 真也¹
- P35 半導体技術による高速次世代シーケンサ、イオントレント PGM の運用例
&ポテンシャル
ライフテクノロジーズジャパン株式会社 平良 光、戸崎 浩和
- P36 「美ら島スマートサイクル社会（自律持続可能な島嶼エネルギー環境社会）」構築
に関する研究
国立大学法人 琉球大学 工学部 瀬名波 出
国立大学法人 琉球大学 農学部 小西 照子
沖縄科学技術大学院大学 神経計算ユニット 銅谷 賢治
- P37 Jatropha種子の搾油技術及び利用技術（発電機、重機）の実施内容
(株) 沖縄エネテック エネルギー開発部
比嘉直人、古木 聡、具志堅 和代
- P38 沖縄生物資源由来アルツハイマー病治療薬のシーズ探索研究
株式会社ファルマエイト
川上 博哉、照屋 貴之、辻子 嘉津、奥田 充顕、吉國 義明、杉本 八郎
- P39 沖縄県人間ドック受診者における肥満および糖尿病と関連遺伝子多型に関する
断面研究
¹ 株式会社ハプロファーマ、² 琉球大学 保健管理センター、³ 東京大学 駒場
オープンラボラトリー、⁴ 琉球大学大学院 医学研究科 循環器・腎臓・神経
内科学講座、⁵ 琉球大学 熱帯生物圏研究センター
花城 薫¹、崎間 敦²、森谷 哲浩¹、顔 瑾¹、辻 慎吾^{1,3}、吉田 安彦¹、
喜屋武 麻美¹、岩本 恭典¹、大屋 祐輔⁴、長嶺 勝⁵、根本 靖久¹

口 頭 発 表

「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」

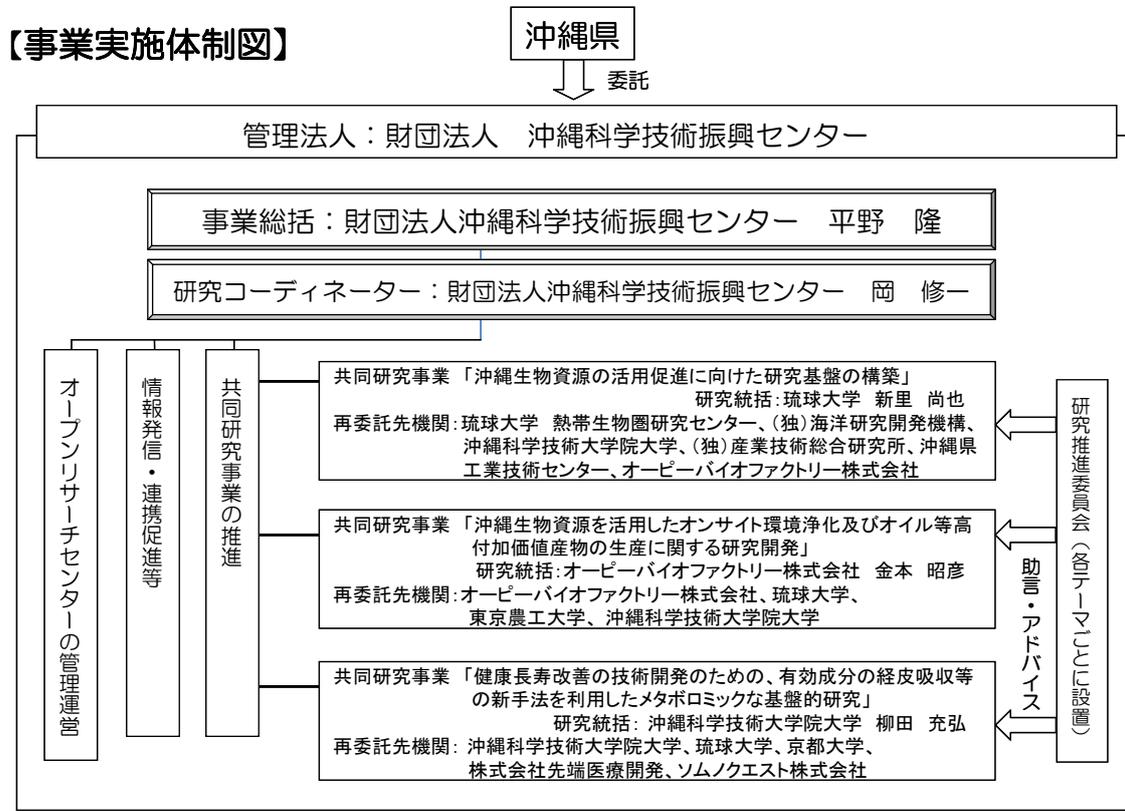
事業概要

事業総括 財団法人沖縄科学技術振興センター 平野 隆

沖縄県は平成 19 年度に次世代シーケンサー3 台を導入し、「ゲノム解析拠点」の構築を開始しました。現在では県内に 10 台の次世代シーケンサーが集積し、先端シーケンサー拠点となっています。また、日本で唯一の亜熱帯地域であることから「多様な生物資源」の収集及び活用についての取組みも進められてきました。

このような高いポテンシャルを活かし、沖縄県の科学技術振興と新産業の創出を目的として、平成 22 年度より「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」を開始しました。この事業を通じて、沖縄県内研究機関とバイオベンチャーのネットワークを構築し、持続的かつ発展的な研究開発の原動力となる知的クラスターへの発展を目指しています。

平成23年度 知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業



<生物資源の活用>：「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」
共同研究事業の概要

研究統括 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也

日本において唯一の亜熱帯気候に属する沖縄県には、一次産業としての農林水産物や発酵産業を支える有用微生物、琉球列島独自のサンゴ礁の海洋生物等、特徴的かつ多様な生物資源が存在しており、これらを利活用した産業振興が期待されている。このような背景において、沖縄県では平成 22 年度より、沖縄の生物資源の利用技術開発とその高度化を目的とした「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」を推進している。本事業では、具体的な研究開発項目として、①「共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究」、②「未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発」、③「有用生物資源の利用技術開発と高度化」、④「先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発」を掲げ、県内外の 8 つの研究機関及び企業（琉球大学、沖縄科学技術大学院大学、オーピーバイオファクトリー、海洋研究開発機構、産業技術総合研究所、沖縄県工業技術センター、沖縄科学技術振興センター）が共同研究を実施している。本事業では、これらの研究開発の場として、生物資源ライブラリーや先端シーケンサーを設置した「オープンリサーチセンター」の整備も進めている。本事業では、共生現象を人為的に制御する共生工学の確立へ向けた基盤構築をはじめ、セルロース合成や植物の耐暑性に関わる遺伝子の解明、バクテリアや真菌等の微生物資源からの薬剤リード化合物や、その生合成遺伝子の取得等の将来的な産業創出に結びつく具体的な成果が期待されている。また、それと同時に参画研究機関ならびに企業を中核とした共同研究を介したネットワーク形成を積極的に推進し、その結果として、沖縄県における持続的かつ発展的な研究開発の原動力となる「知的クラスター」の形成を目指している。



微生物の代謝様式は極めて多様であり、微生物が利用できないものはないと言われている。このような多様性から派生する物質分解性や生産性を活用することで、人間社会は大きな恩恵を受けている。しかしながら、環境中のほとんど（99%）の微生物が未培養であることが知られており、微生物の培養効率の改善ならびに、培養に依存せずにゲノム情報を直接取得、活用する方法が模索されている。近年、シーケンス解析の技術革新が進み、従来のシーケンス解析装置（シーケンサー）と比較して数百倍以上の出力を持つギガシーケンサーが普及しつつある。また、これらのシーケンス解析技術と、マニピュレーションやセル・ソーティング技術を併用することで、シングルセルからの全ゲノム解析も可能な現状となっている。一方で、沖縄は国内で唯一、熱帯から亜熱帯に位置しており、沖縄に生息する微生物は独特なものであると考えられている。近年、生物多様性条約の広がりを受けて安易に海外へ微生物資源を求めることは困難な状況となっており、国内における沖縄の微生物資源の重要性が高まっている。こうした背景において我々は、サンゴ礁生態系に生息する微生物、特に海綿やサンゴ、ホヤ等の海産無脊椎動物に付随して生活している共生微生物が、沖縄における微生物資源の探索源として重要であると考えている。近年、これら海産生物から様々な生理活性（抗菌活性、抗腫瘍活性、免疫抑制活性）を持つ化合物の生産が報告されてきており、その真の生産者が宿主動物ではなく、共生している微生物であると目されている。この共生系から生産される化合物は構造がユニークであり、今後より研究が進めば重要な天然化合物の探索フィールドとなる可能性が指摘されている。本研究では、こうした点を踏まえ、ハイスループットな環境微生物の解析技術ならびに、それらの培養化技術を開発することを目的とした研究開発に取り組んでいる。具体的には、沖縄近海より有用化合物の生産が認められている海綿やホヤ等の海産無脊椎動物を収集し、共生する微生物（バクテリア）相をギガシーケンサーを活用することで網羅的に解析することを試みている。一方で、近年注目されている、細胞壁の部分分解をシグナルとした難培養微生物の培養効率の改善にも取り組んでいる。我々は、本研究において環境微生物の利用技術基盤の構築を行い、将来的に沖縄の微生物資源の発掘と活用に貢献して行きたいと考えている。



独立行政法人 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門
小池 英明

初めて実用化された抗生物質が糸状菌 *Penicillium* の生産するペニシリンであったことに象徴されるように、真菌等の微生物は様々な有用代謝産物を生産することが知られており、産業的にも科学的にも注目されている。我々は真菌が培養条件によって多くの異なる有用な代謝産物を生産することを経験的に知っているが、それらの解析は、その多様性と比べて必ずしも十分に行われていない。また既存の糸状菌のゲノムの解析からも、未知の二次代謝は大量に眠っていることが予想できる。

新たな感染症などが社会問題となる状況下で、新たな薬剤のリード化合物として、糸状菌の二次代謝に期待が寄せられている。従来の研究開発では、生理活性を示す化合物を生産する菌株をスクリーニングした後、生産性の向上は培養条件や人為的な変異体の探索により経験的に行われることが多かった。遺伝子を特定するのに、かなりの資源が必要とされ、実用的でなかったことが原因として挙げられる。しかし、次世代型シーケンサーの登場により、大量の塩基配列データを比較的安価、かつ短時間で得られる現在では、ゲノム塩基配列、遺伝子の情報を用いることで、開発の状況を変えることが可能である。

麹菌 *Aspergillus oryzae* の生産するコウジ酸は、1907年には化合物が発見されていたにも関わらず、100年以上も遺伝子が発見されないままであった。麹菌は2005年にゲノム配列が従来のサンガー法により解読され、12,074個の全遺伝子に対応したプローブを搭載するDNAマイクロアレイが製作されていた。DNAマイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析から、コウジ酸の生産性の異なる条件間で遺伝子の発現プロファイルを比較することにより、コウジ酸の生産に必須の遺伝子を特定することができた。今後の糸状菌のゲノム解読では、次世代型シーケンシングを使用することで、この過程を圧倒的に効率化することが可能となる。

本研究プロジェクトでは、亜熱帯地域に常在する真菌を中心とした糸状菌が様々な培養条件で生産する生理活性物質を、抗菌活性を指標として評価し、有用な代謝物を生産する微生物の候補を探索している。また、有用物質生産に関連する遺伝子の探索や遺伝子発現解析に利用可能な基盤情報の取得を目指し、次世代シーケンサーを用いたシーケンシングを主な手段としたゲノム解析を試みている。これらの解析において特徴的な活性を示した抽出物が由来する真菌のゲノムを解析し、新規機能性物質及びその生合成遺伝子の同定を試みている。その計画、現状の解析結果についてご報告したい。

生合成遺伝子を利用した化合物生産技術の開発と天然化合物ライブラリーの構築

独立行政法人 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター
新家 一男

沖縄県は、その特殊な気候帯に位置することから、我が国の天然資源発掘上、貴重な地域と考えられて来た。実際に、沖縄由来の土壌から生理活性作用を示す、多くの天然化合物を生産する微生物が分離されており、海洋生物についても多くの生理活性物質が単離されている。また、沖縄県では、平成 18 年から 22 年度までの事業において放線菌、乳酸菌、酵母等からなる約 15,000 株を超える亜熱帯微生物ライブラリーを構築した成果を得ている。

微生物の二次代謝産物の生産能に関しては、保存により減弱あるいは消失することが頻繁に見られることが知られている。したがって、二次代謝産物生産菌に関しては、従来の菌株による保存法ではない、遺伝子レベルでの保存が必須となると考えられる。一方で、放線菌内には複数の生合成遺伝子が存在するにも拘わらず、それらの生合成遺伝子のうちごく一部しか実際に化合物生産に用いられていないことが知られている。そこで、二次代謝産物を安定に生産させること、および放線菌の持つ秘めた能力を十分に引き出すことを目的に、新規生合成遺伝子の効率的な取得法、およびその応用としての異種発現生産技術の開発を行った。

生合成遺伝子取得に先立ち、生合成遺伝子同定を行わなければならないが、我々は次世代シーケンサーを用いた高精度の放線菌ゲノム解析を開発した結果、放線菌中に存在する全生合成遺伝子配列を迅速に決定するシステムを確立した。最終的には、この遺伝子配列情報を、化合物の構造および生合成メカニズムを指標に当てはめ、該当化合物の生合成遺伝子を選抜する。選抜した生合成遺伝子サイズにより、コスミド法あるいは BAC (Bacterial Artificial Chromosome) 法を用いて、生合成遺伝子クラスターの取得を行った。医薬品として認可されているような化合物の生合成遺伝子は、100 kbp におよぶ巨大な遺伝子群からなることが多いが、そのような有用物質を生産する生合成遺伝子をインタクトに取得するには BAC 法を用いなければならない。しかしながら、我が国は BAC 法の技術に乏しく、放線菌への応用に至ってはほとんど行われていないのが現状であった。我々は、BAC 法に関して種々の改良を行い、放線菌に適した巨大生合成遺伝子クラスターの取得法を確立した。

異種発現システムに関しては、北里大学池田教授が確立した SUKA 株を基準宿主株として進めた。本宿主株は、内在性の生合成遺伝子をノックアウトしており、外来から導入した生合成遺伝子産物へ、化合物の生産の前駆体の供給が流れるように改良された菌株である。本宿主を用いて、コスミドおよび BAC ベクターで取得した生合成遺伝子クラスターを導入し、化合物生産を行った。本実験により、目的化合物の異種生産に加え、目的生合成遺伝子クラスターサイズより大きなサイズの BAC を用いて形質転換を行い、異種発現生産を試みたケースでは、新たな新奇化合物を生産することが観察された。このことから、生合成遺伝子クラスターを用いた異種発現システムにより、これまでの発酵法では得られなかった新たな化合物を取得することが可能であることを示すものであり、ダ

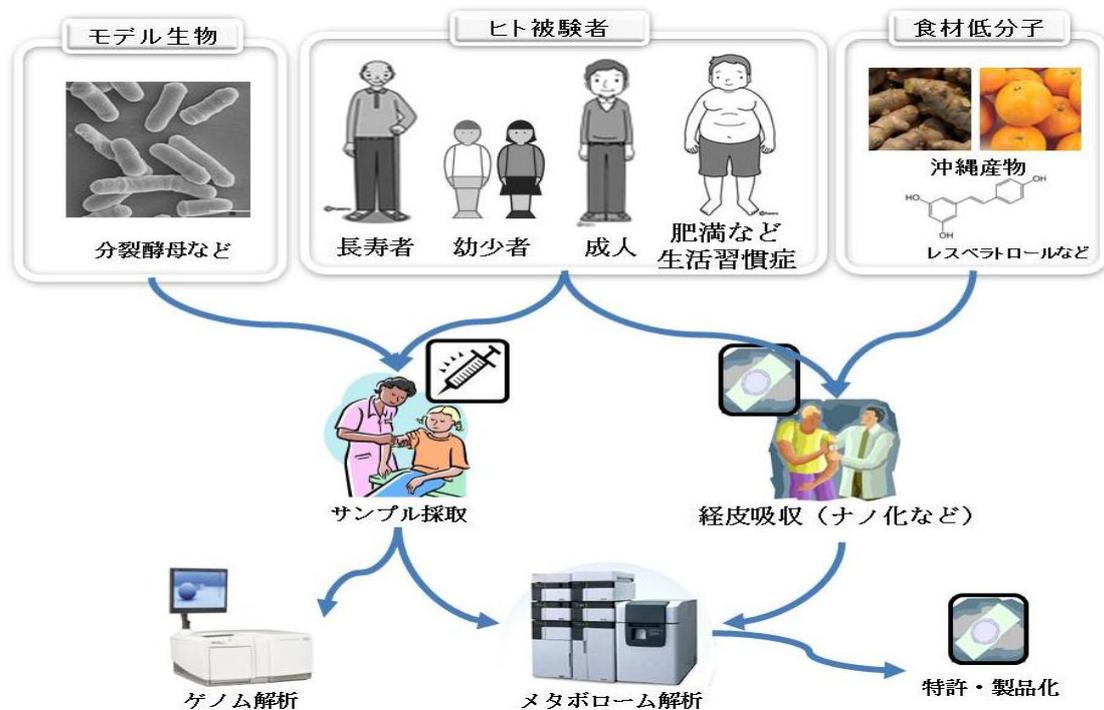
イバーシティーの高い沖縄県由来の菌株の持つ可能性をより効率的に引き出すことが期待される。

本会では、豊富な生物活性を示す天然化合物の新たな生産技術を紹介すると共に、現在抱えている天然物の問題点に立脚した次世代天然物化学の展開について紹介する。

<医療・健康>：「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の
 新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」
 共同研究事業の概要

研究統括 沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘

従来、沖縄県は長寿の県として知られてきた。一方で最近、沖縄男性の平均寿命は急速に低下しつつある。原因として急速に西欧化しつつある食生活の変化が考えられる。沖縄県ではメタボリックシンドローム・肥満率は全国1位である。食生活の変化が、肥満や生活習慣病増加とともに沖縄県民の寿命・長寿に影響したとするならば、長寿のカギのひとつは沖縄食材にあったのかもしれない。本事業では、沖縄の文化的遺産でもあり現在もなおかつ維持されている「長寿」という看板イメージを、科学的検証により強力なブランドにまで高めることを目的とし、「メタボローム解析の技術開発と高度化」、「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」、「沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析の研究」を行う。メタボローム解析とは、低分子化合物を質量分析装置により網羅的に計測する最先端技術であり、既知のサプリメントや沖縄産物のヒト被験者の血中吸収効率や、それによる代謝への影響が高感度に検出可能である。ナノ化とは、薬物封入PLGA ナノ粒子を利用して薬物吸収性の向上、持続的治療効果を得ることができる技術である。沖縄食材のプロファイリングを活用することで沖縄独自の食材からの健康・寿命改善効果のある低分子を見つけ、ナノ化を応用した経皮吸収技術を開発することで製品化を目指す。また、沖縄県に集積している重症肥満家系、重症糖尿病家系および対照家系（長寿家系、痩世家系など）の代謝学的背景の分析、病態把握、ゲノム解析も行う。



21 世紀における人類の最重要課題のひとつは、生活習慣病（肥満・糖尿病など）の診断・治療を含めた健康長寿達成のための新技術開発であろう。特に沖縄では、肥満の増加とともに、看板イメージである「長寿」の県からの脱落が顕著であり、待ったなし、喫緊の課題である。そもそもなぜ沖縄は長寿の島となり得たのか。沖縄島の土壌に生きる生物が作るものに、長寿を可能にする物質があるのではないか。つまりこの島の土壌で育つ、植物が、動物が、水が長寿を可能にしたのではないか。沖縄の長寿健康科学は沖縄の土壌（珊瑚土）をベースにすべきであると考えている。しかしながら、健康に良いと評される沖縄県産物は多々あるが、どれが優れたものであるか実証は容易でない。実は多くのサプリメントと評されるものは、その生物学的効果の学問的検証があまりなされていないのが現状である。沖縄の健康産業開発には学問的基盤のしっかりした裏付けが必要であると信じている。我々はこれまで分裂酵母をモデル生物として用いた老化・代謝研究に従事する過程で、メタボロームという最先端の解析技術の実績を積んできた。メタボローム解析とは、細胞が活着している間に合成・代謝する非常に小さなメタボライト（代謝物）成分（低分子）を、マススペクトロメトリーを応用することにより網羅的に計測する解析技術である。メタボローム解析技術を利用すれば、既知のサプリメント（ポリフェノールやクルクミンなど）や健康長寿に有効な沖縄産物のヒト被験者の血中吸収効率や、代謝への影響を、高感度に検出可能である。その成果は、沖縄産物の健康効果の学問的基盤として還元される。また学問的にも人体での残留時間の検証も可能なので強力な証拠をもって効用を議論することが可能となる。今夏よりこれまでに試料調製法検討や個人差、同一個人の変化などの検討のため、30 人以上の個人から、血液、血漿、血清、赤血球、白血球を得て解析用試料を作製した。200 以上のメタボローム質量分析の解析データを得てこれらを解析しているところである。ヒト血液に 1,000 種近いメタボライトが検出できており、かなり多くのものが分裂酵母でも存在しているが、未知物質も多い。これら未知のコンパウンド、特にヒト、分裂酵母で共通に存在する未知コンパウンドを一つでも既知にできるような努力が必要である。一方で、まだ何かを結論する前に被験者の数を増やしデータの解釈を行うこと、生理実験（経口、経皮、絶食、その他）を続行し被験者ひとりではなく複数で行うこと、経皮的に体内に入りやすい条件を検討物質で探すこと、レスベラトールなどの効果が知られたものについてはさらに詳細なメタボローム解析を行うことなどが今後の課題である。

世界で有数の長寿国である本邦でも、男女ともに健康寿命は平均寿命より 6-7 年短いことが知られている。今後さらなる高齢社会の到来とともに寝たきり、要介護者増加が危惧されており、健康寿命と平均寿命の乖離の悪化が予想される。そのような乖離現象の理由の一つは、死亡原因と寝たきり原因の違いによる。前者は内臓疾患が大半を占めるのに対して、後者は脳血管、骨折、など運動器疾患が重要である。よって、今後の予防医学では死亡原因と寝たきり原因疾患の両方をケアすることが望ましい。上記の背景に鑑み、我々は老年内科の高齢者医療における新たな予防医学的取り組みとして、2006 年より京大病院内でアンチエイジング（老化予防）外来・教室をスタートした。アンチエイジング医療は老化に対する関心・知識の増加とともに注目されつつあるが、我々はアンチエイジングを「更年期アンチエイジング」と「高齢者アンチエイジング」の 2 種類と捉え直し、両者の実践が平均寿命と健康寿命両方の延長に寄与できると考えている。具体的には、老化に対する理解・知識を駆使して、従来の臓器別に捉われず総合内科的に予防医学を実践することを目指す。

一方、老化研究は、1960 年代にテイクオフし、1990 年代に分子生物学的発展をみせ、今まさに注目を浴びつつある。しかしながら、老化研究の歴史の中では、1990 年代はテロメア・テロメレーズの発見により、「老化＝テロメア、テロメア＝老化」と語られた時代があり、2000 年代では Sirt1 の発見により、「老化＝Sirt1、Sirt1＝老化」というような風潮もあり、まだ老化そのものの定義が関連遺伝子の発見によって揺らいでいるという入口の段階とも言える。

以上のような老化研究や社会情勢の変化より、老化研究の成果が具体的に医療応用できる可能性が、2000 年ころより生まれてきた。例えば、当初酵母において長寿遺伝子としてクローニングされた Sir2 (Genes & Dev 1999) は、後にヒトやマウスにもそのホモログが存在することが判明した (Sirt1)。Sirt1 の活性ケミカルは最近メタボリック症候群の治療薬となりうる可能性が注目されつつある (Nature 2006)。基礎老化研究の成果が具体的に臨床応用されつつある端的な例と考えられる。以上のような老化研究の知識や成果を、医療に生かそうとして、生まれてきた潮流がアンチエイジング医療と呼ばれるものである。老化研究の最新の成果を、アンチエイジング医療として還元する可能性を追求するために、我々は本プロジェクトの役割を担うこととした。具体的には、柳田らの持つメタボロームという新規デバイスを利用し、京大病院老年内科にて、若年層 (20-30 歳代)、高齢層 (65 歳代以上) の 2 群で、血液サンプルを摂取し、沖縄科学技術大学院大学 (OIST) にてメタボローム解析を行い、上記のように、モデル生物酵母およびヒト血液サンプル両者で、飢餓や老化に影響するであろう低分子マーカー候補同定を試みる。また既知のポリフェノール (レスベラトロールなど) を用いて、経皮吸収の方法、経皮吸収の場所、吸収持続時間、吸収後効果発現開始時間などを、経口と経皮でメタボローム比較検討し、最適かつ効果的方法を見出す。ヒトの個人差も大きいと考えられるので、ヒト検体もいくつか検討し、データ解析検討する。最終的には、沖縄産物の中で、有効と思われる健康産物 (タンカンなど) の抽出物の経皮吸収による効果も判定・解析する。

食の嗜好性に関わる新しい脳内メカニズム解明と肥満症に対する医学応用

琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座 (第二内科)

益崎 裕章

世界に冠たる長寿の島、沖縄が日本屈指の肥満県、糖尿病県に転じ、平均寿命の凋落が続いている（沖縄クライシス）。本州に比べファストフード上陸が20年先行した沖縄では小児期から米国型ライフスタイルの洗礼を受けた働き盛り世代を中心に、糖尿病、高血圧症、冠動脈疾患の急激な蔓延が大きな問題となっている。このような背景を踏まえ、致死的血管病に連なる一連の代謝疾患の基盤病態としての肥満をいかに制御するかは沖縄における健康長寿復興の鍵を握ると言っても過言ではない。

肥満症・メタボリックシンドロームの病態形成には過食・運動不足・過剰ストレス、生体リズム障害という4つの主要要因が関わっているが、従来、臨床の場で実践されてきた食事療法や運動療法には自ずから限界があり、安全性と有効性の両面に優れた抗肥満薬の開発も国際的に未だ成功に到っていない。

最近、私達は高脂肪食を嗜好する視床下部メカニズムに関して、人工甘味料や玄米を用いた新しい研究を進めている。具体例を挙げると、若齢期のマウスに人工甘味料を与えると高脂肪食への嗜好性が高まり、肥満、脂肪肝、糖尿病が悪化することを見出し、その基盤として視床下部における小胞体ストレスの亢進が関わっていることを明らかにした。一方、高脂肪食に対する玄米の添加がマウスにおける高脂肪食への嗜好性を軽減し、結果として優れた抗肥満効果・抗糖尿病効果を発揮することが明らかとなった。この場合にもやはり、玄米成分による視床下部の小胞体ストレスの軽減が食の嗜好性を変容させていることが判明した。低分子化合物の合成を目指す肥満症新規創薬には膨大な時間・労力・費用を要するが、私達が普段から食べている天然物の中から、食の嗜好性を変容させる成分を同定し、医学応用を目指すアプローチは極めて斬新であり、大きな可能性を秘めている。

本講演では、食欲・食行動に関わる最近の臨床医学の進歩を踏まえ、沖縄発の新しい健康長寿復興プランを提案したい。

<環境・エネルギー>：「沖縄生物資源を用いたオンサイト環境浄化及びオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」

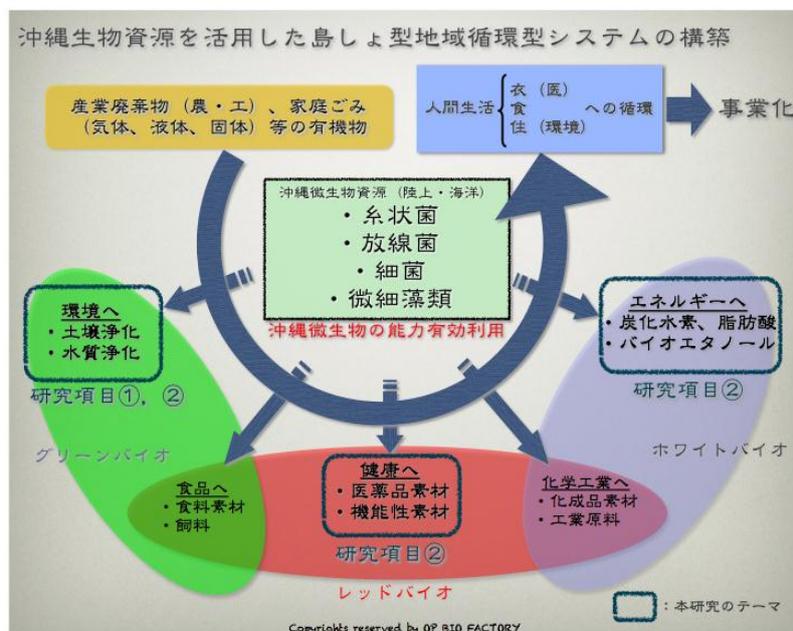
共同研究事業の概要

研究統括　　オーピーバイオフィクトリー株式会社　金本 昭彦

現在、自然エネルギーの開発、CO₂の削減、環境保護の問題が世界的に重要な課題となっており、これは島しょ地域である沖縄でも同様に大きな課題である。これらの課題を島しょである沖縄をモデルに解決手段を検討することは、コンパクトな島であるがゆえ効果を確認し易く非常に有効であると考えられる。ここで構築された技術は沖縄だけでなく世界に普及できる産業技術開発につながる。

本研究では、自然環境の保全・再生を念頭に、人間生活により環境へ排出されている様々な負荷要因をオンサイトで軽減しつつ、それらを再度有効利用できる島しょ型の循環化システム構築を目指した研究開発を実施する。

研究開発として、項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」、項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」の2項目を提案する。具体的には、生物多様性に富んだ沖縄県産の微生物、微細藻類資源を用いて、土壌、河川、海洋等環境の有機物汚染等の浄化、もしくは汚染負荷の軽減手法を検討すると共に、人間生活に循環利用が可能なオイル等機能性成分を高効率に生産する株を探索し、人間生活により排出される有機物等を栄養塩として活用して高付加価値産物を生産させるというものである。そして、環境浄化と高付加価値産物の複合システムによる事業化の検討を行う。



微細藻類とは簡単に言ってしまうと植物プランクトンのことで、顕微鏡でやっとな観察できるような単細胞の藻類の総称である。藻類といえども光合成を営む立派な植物であり、二酸化炭素と水を材料として太陽エネルギーを使って有機物を創りだし成長・分裂を繰り返している。通常光合成の一次産物はデンプンだが、炭素を脂質の形で蓄積する能力が高い微細藻類が数多く存在することが明らかになってきた。乾燥重量の半分以上を炭化水素として細胞外に分泌・蓄積する *Botryococcus* の存在も知られている。我々が使用している "*Pseudochoricystis ellipsoidea*" はトリグリセリドと炭化水素の両方を細胞内に蓄積する。トリグリセリドや炭化水素などは化学処理によって燃料に変換可能なので、このような微細藻類を使ってバイオ燃料を生産しようという試みが最近活発に行われるようになった。

微細藻類によるバイオ燃料生産の一般的なプロセスは、培養→濃縮→回収→抽出→精製→燃料化である。燃料生産のためには当然ある程度の規模感が必要で、培養には大変広い面積が要求される。例えば、期待できる最大の生産性を持った微細藻類を屋外の開放系の池で培養して年間 1 万キロリッターのバイオ燃料を得ようとする、必要面積は数百ヘクタールに上る。人類はこの規模で微細藻類を培養した経験を持っていない。

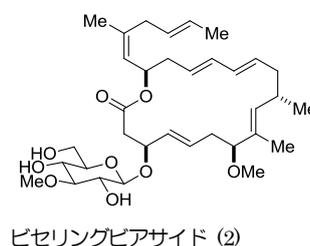
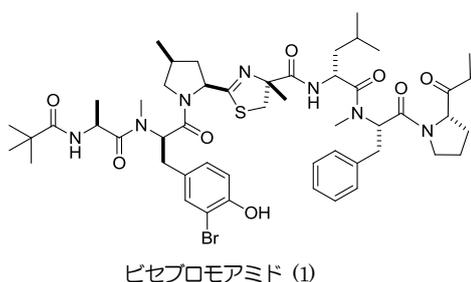
微細藻類の種類は数万種とも言われるが、実際に屋外の商業的大量培養に成功した例は二桁に達しない。それほど屋外大量培養は難しいと考えてよい。とすれば、微細藻類によるバイオ燃料生産を実用化するための第一の要素は、開放的な培養に適した藻類の探索である。大量培養の最大の敵はコンタミ生物（細菌、藻類捕食性の原生動物、目的藻類以外の藻類など）であり、コンタミに強い微細藻類が望ましい。緑藻の仲間であれば環境ストレスによって油分を蓄積させることは可能であると思われるので、油分含量の多い株の探索よりは極限環境（例えば、高温、低温、高塩濃度、高 pH、低 pH など）に馴化し、なおかつ増殖速度の速い株の探索が成功のポイントであろう。

その他の課題としては、コストの削減が挙げられる。上下はあるが原油価格はリッター 50 円前後であり、今後上昇していくにしてもこのレベルに匹敵する価格でバイオ燃料を供給しなければならない。コスト削減には、藻類の育種改良による生産性向上、副産物の有効利用、上記プロセスの全てのステップの最適化等に取り組む必要がある。

微細藻類は、光合成などの生化学的研究や生育などの生理学的研究の材料として古くから使われてきた。また1980年頃から、微細藻類がつくる生理活性物質をはじめ多様な有用成分の探索が活発に行われてきた。その結果、微細藻類はエネルギー資源の元となる炭化水素や脂肪酸、また新規で多彩な化学構造を有し、多様な生物活性や顕著な毒性を示す生理活性物質を生産することが明らかになった。最近では、微細藻類の研究が進む中、DHAやカロテノイド類、アスタキサンチンなどの有用物質を生産する株の利用が進められている。さらに、微細藻類は、約10万種にもおよぶ多様性を有しているといわれており、まだまだ未知の生理活性を有する化合物が多くあるものと考えられている。従って、医薬品や機能性食材の候補物質探索研究ターゲットの宝庫として有望視されている。

我々は沖縄で採集したシアノバクテリア *Lyngbya* sp. を用い、Hela S₃ 腫瘍細胞に対する細胞毒性を指標にして新規生理活性物質の探索を行った。その結果 2 種の細胞毒性物質、ビセブロモアミド(1)及びビセリングビアサイド(2)を単離し、各種スペクトル解析及び誘導反応により、それぞれの絶対立体構造を決定した。

ビセブロモアミドを 39 種類のヒト癌細胞に対してスクリーニングした結果、各種癌細胞に対して強い増殖阻害活性を示し、その GI₅₀ の平均値は 40 nM であった。また、非常に強いプロテインキナーゼ阻害活性を示した。特に ERK のリン酸化を 10~0.1 μM において選択的に阻害し、AKT、PKD、PLCγ1 や S6 リボソームタンパク質などのリン酸化には全く影響しない事がわかった。またビセリングビアサイドを 39 種類のヒト癌細胞に対してスクリーニングした結果、脳腫瘍細胞 SNB-78(GI₅₀ 36 nM)及び肺癌細胞 NCI H522 (GI₅₀ 67 nM)に対して特に強い増殖阻害活性を示した。ビセリングビアサイドは増殖阻害有効濃度が十分低く、また既存の抗癌剤と感受性パターンが異なることから、新規の作用機作を持つと期待される。



次世代 DNA シークエンサーによる揮発性有機塩素化合物分解微生物コンソーシアの解析とバイオレメディエーションへの利用

東京農工大学大学院 工学研究院
養王田 正文

*Dehalococcoides*に代表される一部の嫌気性微生物は、有機塩素化合物を電子受容体として脱塩素化することによりエネルギーを獲得している。一般的に、土壤環境中では電子供与体が不足しているため、その生育速度は非常に遅く、分解速度も遅い。そこで、ポリ乳酸を主成分とするHRC (Hydrogen Releasing Compound)などの水素徐放剤を供給することによる脱塩素化を促進するバイオレメディエーション (バイオスティミュレーション) が揮発性有機塩素化合物で汚染された土壤の浄化方法として実用化されており、一定の成果が得られている。土壤中のテトラクロロエテン (PCE) とトリクロロエテン (TCE) は、1つずつ脱塩素化され、ジクロロエテン(DCE)、ビニルクロライド (VC) を経て、エテンまで分解される。PCE、TCEからDCEまでの分解を行う微生物は多様であるが、DCEからエテンまで脱塩素化 (特にVCの脱塩素化) できるのは一部の*Dehalococcoides*属細菌のみである。このため、水素徐放剤の添加は全ての汚染された土壤に有効ではなく、DCEからエテンまで分解を行う*Dehalococcoides*属細菌が存在しなければ、有害なDCEやVCを生成するだけになってしまうことになる。この問題を解決する技術として、バイオオーグメンテーションが期待されているが、DCEやVCの分解を行う*Dehalococcoides*属細菌の単離培養が困難であるという問題や、投入した環境中で微生物が安定に生育して増殖しない等の問題がある。我々は、浄化の対象とする揮発性有機塩素化合物で汚染された土壤や地下水から揮発性有機塩素化合物分解に関わる微生物コンソーシアを迅速に大量培養し、バイオオーグメンテーションによる浄化に利用する技術を開発している。浄化の対象となる場所から分離した微生物群から構築した微生物コンソーシアを用いることにより、微生物投入による環境影響の問題、遺伝子の攪乱を最小限にしながら浄化することが可能である。また、対象とする汚染サイト中に生存していた微生物を利用することで、環境に適応できず微生物が増殖できないという可能性も低く、高い浄化効率が期待できる。

本研究では、揮発性有機塩素化合物で汚染された地下水から揮発性有機塩素化合物分解微生物コンソーシアを構築し、そのメタゲノムを次世代DNAシークエンサーで解析を行った。その結果、優れた分解能力を有する新規な*Dehalococcoides*属細菌を発見し、コンソーシアを形成する微生物群を明らかにすることができた。この結果から、次世代DNAシークエンサーはバイオレメディエーションに関わる微生物群の解析と利用に極めて有効であることが分かった。

ポスター発表

P01 「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」
事業概要

事業総括 財団法人 沖縄科学技術振興センター 平野 隆

沖縄県は平成 19 年度に次世代シーケンサー 3 台を導入し、「ゲノム解析拠点」の構築を開始しました。現在では県内に 10 台の次世代シーケンサーが集積し、先端シーケンサー拠点となっています。また、日本で唯一の亜熱帯地域であることから「多様な生物資源」の収集及び活用についての取組みも進められてきました。

このような高いポテンシャルを活かし、沖縄県の科学技術振興と新産業の創出を目的として、平成 22 年度より「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」を開始しました。この事業を通じて、沖縄県内研究機関とバイオベンチャーのネットワークを構築し、持続的かつ発展的な研究開発の原動力となる知的クラスターへの発展を目指しています。

平成23年度 知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業

【事業実施体制図】



P02 <生物資源の活用>：「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」
共同研究事業の概要

研究統括 琉球大学 熱帯生物圏研究センター 新里 尚也

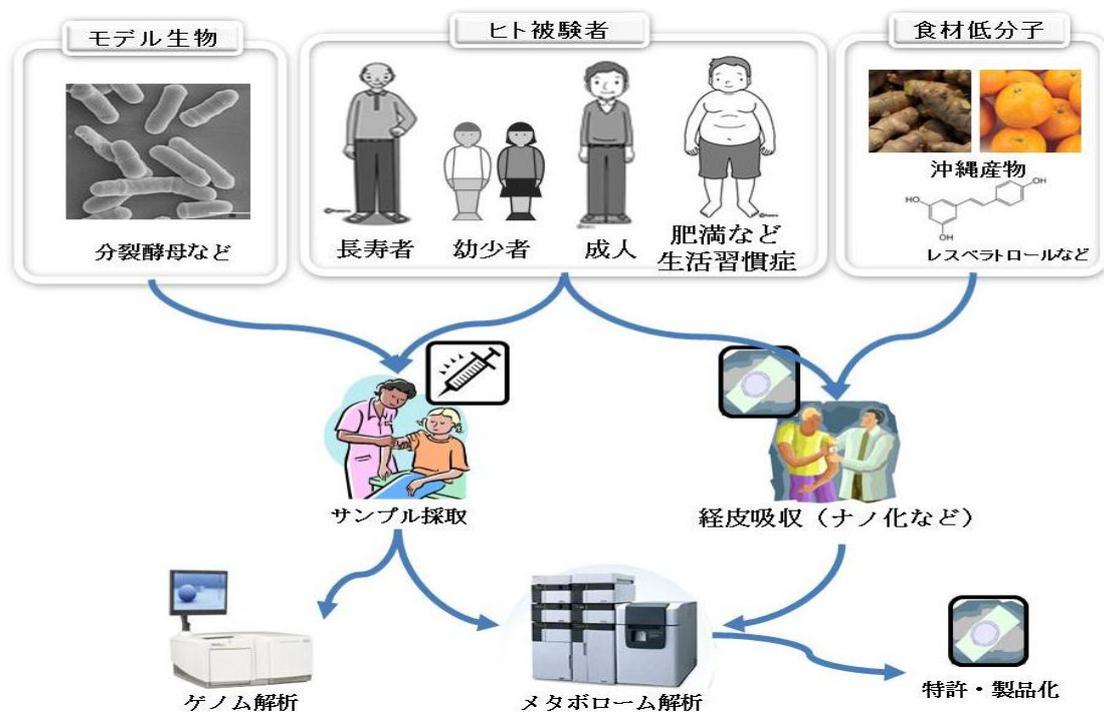
日本において唯一の亜熱帯気候に属する沖縄県には、一次産業としての農林水産物や発酵産業を支える有用微生物、琉球列島独自のサンゴ礁の海洋生物等、特徴的かつ多様な生物資源が存在しており、これらを利活用した産業振興が期待されている。このような背景において、沖縄県では平成 22 年度より、沖縄の生物資源の利用技術開発とその高度化を目的とした「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」を推進している。本事業では、具体的な研究開発項目として、①「共生工学の構築へ向けた共生機構モデルの研究」、②「未利用有用生物資源の探索と新規探索技術の開発」、③「有用生物資源の利用技術開発と高度化」、④「先端シーケンサーを活用した高効率・高精度ゲノム解析技術の開発」を掲げ、県内外の 8 つの研究機関及び企業（琉球大学、沖縄科学技術大学院大学、オーピーバイオファクトリー、海洋研究開発機構、産業技術総合研究所、沖縄県工業技術センター、沖縄科学技術振興センター）が共同研究を実施している。本事業では、これらの研究開発の場として、生物資源ライブラリーや先端シーケンサーを設置した「オープンリサーチセンター」の整備も進めている。本事業では、共生現象を人為的に制御する共生工学の確立へ向けた基盤構築をはじめ、セルロース合成や植物の耐暑性に関わる遺伝子の解明、バクテリアや真菌等の微生物資源からの薬剤リード化合物や、その生合成遺伝子の取得等の将来的な産業創出に結びつく具体的な成果が期待されている。また、それと同時に参画研究機関ならびに企業を中核とした共同研究を介したネットワーク形成を積極的に推進し、その結果として、沖縄県における持続的かつ発展的な研究開発の原動力となる「知的クラスター」の形成を目指している。



P03 <医療・健康>：「健康長寿改善の技術開発のための、有効成分の経皮吸収等の新手法を利用したメタボロミックな基盤的研究」
共同研究事業の概要

研究統括 沖縄科学技術大学院大学 柳田 充弘

従来、沖縄県は長寿の県として知られてきた。一方で最近、沖縄男性の平均寿命は急速に低下しつつある。原因として急速に西欧化しつつある食生活の変化が考えられる。沖縄県ではメタボリックシンドローム・肥満率は全国1位である。食生活の変化が、肥満や生活習慣病増加とともに沖縄県民の寿命・長寿に影響したとするならば、長寿のカギのひとつは沖縄食材にあったのかもしれない。本事業では、沖縄の文化的遺産でもあり現在もなおかつ維持されている「長寿」という看板イメージを、科学的検証により強力なブランドにまで高めることを目的とし、「メタボローム解析の技術開発と高度化」、「沖縄産素材の探索とナノ化技術を応用した経皮吸収技術の開発」、「沖縄長寿・肥満家系の調査と疫学ゲノム解析の研究」を行う。メタボローム解析とは、低分子化合物を質量分析装置により網羅的に計測する最先端技術であり、既知のサプリメントや沖縄産物のヒト被験者の血中吸収効率や、それによる代謝への影響が高感度に検出可能である。ナノ化とは、薬物封入PLGA ナノ粒子を利用して薬物吸収性の向上、持続的治療効果を得ることができる技術である。沖縄食材のプロファイリングを活用することで沖縄独自の食材からの健康・寿命改善効果のある低分子を見つけ、ナノ化を応用した経皮吸収技術を開発することで製品化を目指す。また、沖縄県に集積している重症肥満家系、重症糖尿病家系および対照家系（長寿家系、痩世家系など）の代謝学的背景の分析、病態把握、ゲノム解析も行う。



P04 <環境・エネルギー>：「沖縄生物資源を用いたオンサイト環境浄化及び
オイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」
共同研究事業の概要

研究統括 オープーバイオファクトリー株式会社 金本 昭彦

現在、自然エネルギーの開発、CO₂の削減、環境保護の問題が世界的に重要な課題となっており、これは島しょ地域である沖縄でも同様に大きな課題である。これらの課題を島しょである沖縄をモデルに解決手段を検討することは、コンパクトな島であるがゆえ効果を確認し易く非常に有効であると考えられる。ここで構築された技術は沖縄だけでなく世界に普及できる産業技術開発につながる。

本研究では、自然環境の保全・再生を念頭に、人間生活により環境へ排出されている様々な負荷要因をオンサイトで軽減しつつ、それらを再度有効利用できる島しょ型の循環化システム構築を目指した研究開発を実施する。

研究開発として、項目①「環境負荷の少ない環境浄化手法の開発」、項目②「沖縄生物資源を活用したオイル及び高付加価値産物生産に関する研究」の2項目を提案する。具体的には、生物多様性に富んだ沖縄県産の微生物、微細藻類資源を用いて、土壌、河川、海洋等環境の有機物汚染等の浄化、もしくは汚染負荷の軽減手法を検討すると共に、人間生活に循環利用が可能なオイル等機能性成分を高効率に生産する株を探索し、人間生活により排出される有機物等を栄養塩として活用して高付加価値産物を生産させるというものである。そして、環境浄化と高付加価値産物の複合システムによる事業化の検討を行う。

本事業では2つの研究開発項目を以下の諸機関にて分担実施する。

研究開発項目①：東京農工大学、オーパーバイオファクトリー

研究開発項目②：琉球大学（理学部）、琉球大学（教育学部）、
オーパーバイオファクトリー、沖縄科学技術大学院大学

沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミクスユニット
中島 啓介、佐藤 矩行

セルロースは D-グルコースが β -1,4 結合を介して直鎖状に連なった多糖であり、自然界における存在の基本形態はナノサイズの繊維状結晶である。繊維状結晶は由来する生物種に固有の形状を示すとともに、その最小構造単位である単位胞に多形が認められる（三斜晶系の **I α** アロモルフと単斜晶系の **I β** アロモルフ）。これらの結晶多形がセルロースの物性に影響することはよく知られているが、結晶多形が生じるしくみは不明である。我々は、浮遊性ホヤの一種であるワカレオタマボヤ (*Oikopleura dioica*) を用いて、その幼生期の外皮構造が **I α** アロモルフのセルロースから構成され、成体期の外皮に由来する摂食装置であるハウス構造が **I β** アロモルフのセルロースから構成されることを報告する。これは、アロモルフ構成の異なるセルロース構造をつくる生物の初めての例となる。幼生期の外皮構造と成体期のハウス構造が形成される際、それぞれの構造を分泌する表皮細胞において、それぞれ異なるセルロース合成遺伝子（幼生期: *Od-CesA1*・成体期: *Od-CesA2*）が特異的に発現していることから、結晶多形が遺伝的に制御されている可能性が示唆された。

沖縄科学技術大学院大学 シーケンシングセクション
マリンゲノミクスユニット
藤江 学、宇佐美 剛志、小柳 亮

沖縄科学技術大学院大学 (OIST) は、世界最高水準の科学技術に関する研究及び教育を実施することにより、沖縄の自立的発展と、世界の科学技術及び経済社会の向上に寄与することを目的として掲げ 2011 年 11 月に設立されました。ゲノム研究はこの目標を達成するための活動の一つですが、近年、この分野においては技術が急速に発達しており、次世代型と呼ばれる大量・高速解析が可能なシーケンサーが上市されゲノム解読の速度はそれ以前に比べ大幅に上がりました。このような中で、OIST は国内の諸研究機関に先駆けて次世代シーケンサーを導入し、世界有数の最先端ゲノム研究の拠点にするべく研究活動を進めてきました。現在では、Roche 社 454 FLX+ が 3 台、Illumina 社 GAIIx が 2 台の合計 5 台の次世代シーケンサーが稼働しており、高精度なゲノム解読を行っています。

OIST シーケンシングセクションは、その設立理念と社会的使命のひとつである沖縄振興を目的とし沖縄県委託事業である「沖縄生物資源の活用促進に向けた研究基盤の構築事業」に参加しています。本プロジェクトでは、独立行政法人産業技術総合研究所の新家一男博士らの研究グループと共同で複数種の放線菌のゲノムを解読しました。

放線菌は、結核治療薬のストレプトマイシンや抗がん剤のマイトマイシン、免疫抑制剤 FK506 など、数多くの抗生物質や工業的に重要な有用化合物を生合成するための遺伝子群を持っていることで知られる重要な生物資源です。本プロジェクトでは、まず最初に Roche 社の 454FLX によるホールゲノムショットガン法とペアードエンド法を用い 2 株の放線菌のゲノムを解読しました。約 800 万塩基対にわたるゲノムのほぼ全配列の決定に成功し、有用天然化合物の生産に関わる全ての遺伝子が明らかになりました。これまで放線菌ゲノムの完全解読は、繰り返し配列が多く次世代シーケンサーでの解析が困難であると考えられてきただけに重要な成果です。次に、多数の放線菌株のゲノムを迅速かつ低コストで解読することを目的として、菌株ごとに異なる標識配列を導入したゲノムライブラリを作成し一度に多数のゲノム配列を決定するマルチプレックス解析と呼ばれる手法に我々は着目しました。これまでマルチプレックス解析をペアードエンド法へ応用する実験手法は確立されていませんでした。そこで我々は多サンプルの新規ゲノム解読を可能にするために OIST 独自の実験手法を構築するに至りました。この新たな実験手法の構築により、沖縄県由来の 4 株を含む 12 株の放線菌ゲノム解読をほぼ終えています。本プロジェクトでは放線菌の精密なゲノム解読に成功するとともに、解読に要する時間とコストを大幅に削減する新技術を実用化し、大量の放線菌ゲノムの解読に道筋がつけました。この成果はゲノム創薬の加速化と沖縄生物資源を活用した新しい産業の創出につながることに期待されます。今回の発表では、これまでの放線菌のゲノム解析について報告します。

P07 深海性二枚貝シロウリガイ類の細胞内共生細菌のゲノム縮小に関する研究

独立行政法人 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域
吉田 尊雄、高木 善弘、島村 繁、丸山 正

共生とは 2 種類以上の生物が一緒に生活し共存している現象である。生物は核を持つ真核生物と核を持たない原核生物（細菌）に分けられる。その真核生物の細胞の中に他の生物が共生することを細胞内共生という。細胞内共生は、例えば、サンゴと褐虫藻（微細藻類）、アブラムシとブフネラ（共生細菌）、植物と根粒菌など、地球上の様々な生物で見られる。真核生物の成り立ちを考える上で、細胞内共生は重要な現象の一つである。真核生物の細胞の中にミトコンドリアや葉緑体が存在するが、その起源は細菌であり、真核細胞の誕生の際に祖先真核細胞の中にミトコンドリアや葉緑体の祖先が共生して、現在の真核細胞へ進化したと考えられている。深海の湧水域や熱水域に生息する生物の多くは化学合成細菌と細胞内共生することにより成立している。化学合成細菌は、湧水や熱水に含まれる硫化水素からエネルギーを取り出し、植物のように二酸化炭素を固定して栄養を作り出している。湧水域や熱水域に生息する二枚貝のシロウリガイ類は、エラの細胞の中に化学合成細菌が共生している。シロウリガイ類は、口や消化管は機能していないため、共生細菌が作り出した栄養に依存している。生物が必要とするエネルギーや栄養はミトコンドリアや葉緑体が作り出しているため、シロウリガイ類の共生細菌はミトコンドリアや葉緑体に近い機能を担っているといえる。

生物現象を支える全遺伝子情報のセットをゲノムと呼ぶが、細胞内に共生している生物（共生者）は一般にゲノムの大きさ（ゲノムサイズ）が小さくなる傾向が見られる。これをゲノム縮小進化と呼んでいる。ミトコンドリアや葉緑体もゲノム縮小進化の結果、小さなゲノムを持つようになったと考えられている。ゲノム縮小進化を探るために、共生者のゲノムを解析する取り組みがなされている。よく議論されているアブラムシとブフネラの細胞内共生では、ブフネラのゲノムサイズは、約 0.4-0.6Mbp で、自由生活をしている大腸菌（ゲノムサイズは約 4Mbp）に比べると非常に小さい。これは細胞内共生により不要な遺伝子がなくなりゲノムが縮小した結果と考えられている。

一方、シロウリガイ類の共生細菌のゲノムは、我々とアメリカのグループにより 2 種類のシロウリガイの共生細菌のゲノム解析が行われた。2 種のシロウリガイ類共生細菌のゲノムサイズは、1.0Mbp と 1.2Mbp であり、ブフネラと比べてゲノムサイズが大きい。これらのゲノムを比較すると、シロウリガイ類共生細菌はゲノム縮小の進化過程の初期段階にあり、多くの昆虫の共生細菌よりも、ゲノム上に縮小進化の痕跡が残されている可能性がでてきた。本発表では、最新の研究結果を含め、シロウリガイ類の細胞内共生細菌のゲノム縮小に関しての研究を紹介する。

P08 鯨骨生物群集へ共生する微生物のゲノム解析

1. 独立行政法人 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域
2. 沖縄県工業技術センター
3. 沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミックスユニット
高木 善弘¹、津田 美和子¹、照屋 盛実²、吉田 尊雄¹、
島村 繁¹、宮崎 征行¹、佐藤 矩行³、丸山 正¹

太陽光の届かない広大な深海のなかにスポット的に陸上では見られない生物群集が出現することがある。「鯨骨生物群集」もそのような生物群集である。クジラのような海洋の大型生物の遺骸が海底に沈むと、時間が経つにつれ、その周辺には「ヒラノマクラ、ゲイコツマユイガイといった二枚貝、ホネクイハナムシといった環形動物など非常にユニークな生き物が出現し、繁殖し始めるのである。これら鯨骨生物群集は、単なるクジラの分解者の集まりという意味だけではなく、その成り立ちには、“化学合成”と“共生”がキーワードになる“生きる戦略”が存在する。

陸上では、太陽の光からエネルギーを得て有機物を生産する植物（生産者）、これを栄養源として消費する動物（消費者）、最後にその生物遺骸や老廃物を分解する微生物（分解者）からなる光合成生態系が広がっている。一方、太陽の光の届かない深海の鯨骨周辺では、太陽光に代わるエネルギー源として、クジラの有機成分の分解過程で生まれるメタンの酸化や硫化水素といった無機物の酸化エネルギーを利用した化学合成生態系で成り立っている。この生態系での生産者は化学合成微生物であり、このメタンや硫化水素から得たエネルギーを使い、植物と同様に無機物の二酸化炭素から有機物を合成し、周辺の消費者や分解者が、その有機物を利用している。

鯨骨生物群集の栄養源は鯨骨であり、その量は極めて限られており、群集を形成している生物たちは如何に鯨骨から栄養をとるか工夫を凝らしている。つまり利用できない有機物あるいは足りない有機物を共生者とよばれる微生物の助けをかりて賄っている。例えば、ホネクイハナムシは、鯨骨上で生育する生き物であるが、体の一部を植物の根のように鯨骨のなかで成長させ、鯨骨内の栄養源を食べ尽くす。この根状組織の細胞の中には共生細菌と呼ばれる微生物が棲息しており、ホネクイハナムシ自身では消化しにくい鯨骨の栄養源、特に油脂やコラーゲンと呼ばれる蛋白質を分解し、宿主であるホネクイハナムシに与える可能性が考えられている。この共生というシステムは、化学合成生態系においても重要であり、宿主動物は生産者である化学合成微生物を体の中に共生させ、その生産物を外界に逃すこと無く効率良く自分の栄養源としている。

鯨骨生物群集にみられる共生には、宿主と共生微生物との間でどのような物質のやり取りがあるのか？それはどのようにコントロールされているのか？宿主はどのようにして共生させる微生物を選んでいるのか？と数多くの未解な問題が残されている。そこで、この問題を解き明かすための突破口として、我々は鯨骨生物群集の中からホネクイハナムシを選び、その共生微生物が持つゲノム構造を明らかにしようとしている。そこには、油脂やコラーゲン分解酵素や宿主の細胞内への移動するための因子や生物間のコミュニケーションのためのツールなどの遺伝子セットの存在の可能性が示されており、本発表では、これら最新の研究成果について紹介します。

P09 海洋環境からの有用酵素資源の探索

1 独立行政法人 海洋研究開発機構、2 東洋大学理工学部

鳴根 康弘¹、峯岸 宏明²、秦田 勇二¹、大田 ゆかり¹、
越後 輝敦²、西 真郎¹、宇佐美 論、²、丸山 正¹

本課題研究では、高い温度領域での連続反応に供する耐熱性寒天分解酵素の探索と解析に取り組んだ。

寒天はテングサやオゴノリ等の紅藻類に含まれる多糖類で、主成分であるアガロースを加水分解する酵素がアガラゼである。分解様式により EC3.2.1.158 に定義される α -アガラゼと、EC3.2.1.81 に定義される β -アガラゼとに分類されている。アガロースはアガロビオースを繰り返し単位としており、基本骨格は β -D-ガラクトピラノースと 3-アンヒドロ- α -L-ガラクトピラノースから成っている。このうち α -1,3 結合を認識するのが α -アガラゼであり、 β -1,4 結合部位を認識するのが β -アガラゼである。アガラゼはアガロース電気泳動後のゲル断片中から高分子 DNA を回収する研究用試薬として需要がある他、アガラゼにより生産されるアガロオリゴ糖には抗腫瘍作用や保湿、美白作用などが報告されており、医薬化粧品原料としての応用化が期待されている。

これまで寒天分解酵素のほぼすべては海域から分離された微生物から見つかったが、そのほとんどが至適温度 30 °C 程度であり、熱安定性にも乏しい。一方、寒天を効率的に加水分解するためには高濃度の溶液状態で酵素反応を行うことが望ましく、50 °C 以上の温度域で安定的に利用できる酵素の開発が求められてきた。発表者らは 2005 年に駿河湾水深 2,406 m の深海底泥から最適反応温度 50-60 °C、70 °C で 30 分間の熱処理に耐える耐熱性アガラゼを発見し、2009 年に商品化している。

本研究では、高度好塩性古細菌からアガラゼ活性を呈する *Halococcus* sp. 197A を発見した。本菌株が生産するアガラゼは最適反応温度約 70 °C であり、80 °C で 60 分間加熱処理した後も活性が低下しなかった。さらに Ca²⁺イオン存在下においては 100 °C で 20 分間煮沸処理した後も約 20% の活性を維持でき、既知アガラゼの記録を大幅に塗り替えた。N 末端アミノ酸配列解析およびゲノム解析により決定した本酵素のアミノ酸配列は、529 アミノ酸で構成されており、配列中に 3 個あるシステイン残基がジスルフィド結合を形成して耐熱化に寄与している可能性が示唆された。アミノ酸配列の BLAST 解析では、有意に相同性のある配列は存在しなかった。また、Glycoside hydrolase family 16 (GH16)、GH50、GH86、GH96、GH118 に属する既知のアガラゼと配列のアライメント解析も試みたが、触媒残基等の保存領域は見つからず、新しいファミリーを提唱できる可能性が示唆された。

「細胞内共生」は異なる生物を細胞内に住まわせて共生関係を確立する現象であり、生物進化を飛躍的に促進する重要な現象であると考えられている。実際、ほとんどの真核生物が細胞内に維持するミトコンドリアや、植物細胞が有する葉緑体は、いずれも太古の昔に細胞内に入り込んだ細菌の末裔である。これらは現在、一部もしくはすべてのゲノム情報を核へ移行させた事によって細胞内小器官となっているが、こうした別の生物を自らの体の一部として取り込む事で、多くの生物が酸素呼吸能を獲得し、植物は光をエネルギーに変換する術を得て地球上での繁栄を極める結果となった。このように「細胞内共生進化」は既に完成している別のシステムを丸ごと取り込む事で、生物が全く新しい機能を獲得する（進化する）事を可能にしている。このような共生進化を研究することは学術的興味もさることながら、人為的に共生体の置換や性質を改変する技術を開発することで共生工学とも呼べる新規な応用学的研究領域を確立できる可能性があり、今後の発展が期待される研究テーマでもある。本研究では、我々が保有する世界的に見ても珍しい古細菌と真正細菌の二つの共生体を細胞内に維持するトリミアマ原虫を細胞内共生研究のモデル系として確立し、共生体間の相互作用を含む複雑な多重共生の生態、進化に関する知見を収集することを目的としている。これまでの研究経過として、培養株のクローン化と共生体の系統学的帰属の解析、細胞内での局在性の検討を行ってきた。その結果、本共生系には水素資化性のメタン生成菌と機能未知の真正細菌共生体が細胞内に生息していることが明らかとなった。また、それぞれは細胞内での局在性が異なっていること、メタン生成共生体はトリミアマ原虫の系統で頻繁に置換が起きている可能性があることなどが示唆された。本研究では、これまでに得られた知見に加え、トリミアマ原虫共生系を細胞内共生研究のモデルとする為に以下に示す要件を満たすべく研究を進めている。一点目は、二つの共生体の機能（共生の成立要因）を明確にすること。二点目は、培養株を安定的に保存する技術開発を行い、他の研究者への提供が可能な管理体制を構築すること。三点目は、共進化研究を推進するベースとなる、共生体の全ゲノムシーケンスを解読して公開することである。我々はこのトリミアマ原虫共生系が細胞内共生研究を進展させる理想的なモデルのひとつになると確信しており、得られた知見を活用することで将来的な共生工学の創設へ貢献したいと考えている。

沖縄は国内で唯一、熱帯から亜熱帯に位置しており、そこに見られる動植物相は日本本土とは大きく異なっている。沖縄の気候や地理的特異性は、全ての生物の種分化に影響を与えていると考えられることから、沖縄に生息する微生物についても固有の種分化を遂げている可能性が高い。微生物の持つ様々な機能は我々の生活に無くてはならないものであり、有用機能を持つ微生物の探索が世界的に行われている。しかしながら、近年の生物多様性条約の広がりを受けて安易に海外へ微生物資源を求めることは困難な状況となっており、国内における沖縄の微生物資源の重要性が高まっている。こうした背景において我々は、サンゴ礁生態系に生息する微生物、特に海綿やサンゴ、ホヤ等の海産無脊椎動物に付随して生活している共生微生物が、沖縄における微生物資源の探索源として重要であると考えている。これらの生物は、サンゴと褐虫藻の関係に代表されるように互いに利益を与えあいながら共存している共生関係を築いている。近年、これら海産生物から様々な生理活性（抗菌活性、抗腫瘍活性、免疫抑制活性）を持つ化合物の生産が報告されてきており、その真の生産者が宿主動物ではなく、共生している微生物であると目されている。この共生系から生産される化合物は構造がユニークであり、今後より研究が進めば重要な天然化合物の探索フィールドとなる可能性が指摘されている。しかしながら、こうした化合物は多種多様な微生物が共生する生態系（mix consortia）で生産されており、実際に生産を担っている微生物を特定するのが困難である。また、共生微生物は他の生物との複雑な相互依存関係の中で生育しており、汎用培地で容易に生育できない、所謂、難培養微生物である。そのため、有用化合物の真の生産者の特定、ならびにそれらを培養して活用するには様々な技術的課題をクリアしなければならないのが現状である。本研究では、こうした点を踏まえ、ハイスループットな環境微生物の解析技術ならびに、それらの培養化技術を開発することを目的とした研究開発に取り組んでいる。具体的には、沖縄近海より有用化合物の生産が認められている海綿やホヤ等の海産無脊椎動物を収集し、共生する微生物（バクテリア）相をギガシーケンサー（次世代シーケンサー）を活用することで網羅的に解析することを試みている。一方で、近年注目されている、細胞壁の部分分解をシグナルとした難培養微生物の培養効率の改善にも取り組んでいる。我々は、本研究において環境微生物の利用技術の基盤構築を行い、将来的に沖縄の微生物資源の発掘と活用に貢献して行きたいと考えている。

P12 熱帯樹木のイソプレン合成と放出の特性

琉球大学 熱帯生物圏研究センター マングローブ生物学部門・遺伝資源応用分野
屋 宏典

亜熱帯島嶼域の植物は高温、強光、塩分等の環境ストレスに適応して生育している。このような過酷な自然環境に適応するためには、ストレス耐性遺伝子群の構造とこれらを制御するネットワークを環境に順応して進化させる必要があったと考えられる。環境ストレスに対する生物の適応方法は一様ではなく、複数の系を効率よく制御し、ストレスを克服する最適の状況を作り出していると想像される。従って、熱帯植物のゲノムにはこれらの環境ストレスに適応するシステム情報が蓄積されていることになる。本研究においては、近年飛躍的に進歩したシーケンス技術を活用することにより、熱帯植物の高温耐性機構について、機能遺伝子の構造だけでなくこれらの制御を司るネットワークシステムを統合的に解析し、これらの知見を耐暑性作物の創出に応用することを目的として研究を進めている。

本研究においては、これまで高感度イソプレン測定装置を用いて、熱帯樹木4種（オオバユビワ、テリハボク、フリソシンカ、フクギ）のイソプレン放出の光と温度に対する応答特性を温帯樹木の場合と比較・解析した。その結果、熱帯樹木のイソプレン放出データから推定したイソプレン放出モデル式の温度及び光係数式のパラメーターはいずれも温帯樹木に適用される数値より高く、熱帯樹木からのイソプレン放出の温度応答性は温帯樹木に比べて顕著に高かった。一方、熱帯樹木のイソプレン放出の光強度依存性は温帯樹木とほぼ同等と見積もられたが、強光域ではイソプレン放出の低下が観察された。また、野外温度とイソプレン放出の相関についてハマユビワを用いて検討した。外気温が一定温度以下に低下した翌日のイソプレン放出は完全停止することから、外気温或いは光強度をモニターしながらイソプレン放出を制御する系の存在が示唆された。

本発表では熱帯樹木のイソプレン合成系について、合成酵素の分子レベルでの特性及びその発現制御機構等についてこれまで得られた成果を紹介する。

P13 亜熱帯微生物資源ライブラリーからの有用機能性探索

オーピーバイオファクトリー株式会社
金本 昭彦

【目的】本研究開発項目では、沖縄県内の生物資源を ORC に集結させ、共通フォーマットでスクリーニングできる体制を整えて生物資源の機能性探索を行える基盤構築を行い、更に機能性評価を開始することを目的とする。

【背景】これまでに海洋生物エキス 800 サンプル、微生物株 4,000 株、微細藻類株 100 株を集結させた。また、マクロ生物資源や微生物代謝産物の機能性探索を実施するため、細胞毒性系および抗菌・抗真菌アッセイ系の評価体制を整えた。また多剤耐性菌に有効な評価系を近畿大学内海教授より導入しスクリーニングを実施した。

【研究内容】23 年度は、集結した生物資源を利用すると共に新たな微生物資源も用いて、多剤耐性菌に有効な抗生物質のスクリーニングを実施した。評価系は、枯草菌の二成分制御系 WalK/WalR 阻害の評価手法を近畿大学内海教授より導入した。二成分制御系 (TCS: Two component System) は細菌特異的な情報伝達機構で、増殖や薬剤耐性に重要な役割を果たしている。TCS 阻害剤は、既存の抗生物質とは異なる作用機作であることから、多剤耐性菌 (MRSA, VRE など) に有効性が期待される。

スクリーニングには海水・汽水域の微生物約 22 万株のスクリーニングを実施し、WalK/WalR 阻害を示す株 13 株 (糸状菌 9 株、放線菌 4 株) を選抜した。選抜した株は培養条件を検討し、至適条件にて大量培養を行い、活性成分の精製・構造決定に供した。2 株の活性成分を明らかにし、F23 株 (*Penicillium citrinum*) より citrinin, F24 株 (*Metarhizium anisopliae*) より helvolic acid を同定した。いずれの化合物も MRSA (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) に対して抗菌を示し、それぞれの MIC は citrinin 100 ug/ml, helvolic acid 1.3 ug/ml であった。さらに KN509 株及び KN561 株の生産する活性化合物の精製を進め高純度の試料を取得している。今後、化合物の構造を明らかにしていく予定である。

【成果と今後の展開】新たな分離源を採集し微生物を多数分離し、ハイスループット化した評価系での評価を実施した。その結果 F23 株 (*Penicillium citrinum*) より citrinin, F24 株 (*Metarhizium anisopliae*) より helvolic acid を単離・同定した。スクリーニングにより開発候補化合物が得られた場合、化合物生産に関与する遺伝子のゲノム情報を明らかにし、培養物から迅速に目的化合物の精製・構造が決定できる体制を整えた。今後、活性化合物の同定を進め、MRSA, VRE に対する抗菌試験や作用メカニズムの検討を行う。また、医薬品としての開発に問題がないか等の検討を行い、有用な化合物に関しては動物実験等を実施し特許の取得を行う。また、新たなスクリーニング系を導入し、新規化合物および医薬品のリード化合物の探索を進める。

P14 沖縄由来の海洋生物および特異環境土壌由来の微生物が持つ二次代謝産物生能
(有用遺伝子取得法の開発の一環としての微生物および二次代謝産物取得)

独立行政法人 産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター
新家 一男

沖縄県は、天然資源の貴重な地域と考えられて来たが、網羅的かつシステムティックな解析が必ずしも行われてきたわけではない。また、医薬品をはじめとする多くの微生物二次代謝産物を生産する菌株の分離は、土壌サンプルをメインに行われて来ている。そこで、我々は新たな二次代謝産物を生産する菌株を取得することを目的に、海綿をはじめとする沖縄県由来の海洋生物、および海底土壌・マングローブ土壌を微生物分離のソースとして用い、新たな菌株分離法を開発することを目的に研究を行った。

海洋生物のうち、海綿からは医薬品として認可された化合物をはじめ、多くの生理活性物質が見出されており、天然生理活性物質の宝庫である。沖縄県、石垣島近海から 18 種類の海綿を採集し、菌株の分離を行った結果、19 属 462 株の放線菌を単離し、16S rDNA の相同性が 98.5%以下を示す新種の可能性がある菌株を 24 株単離することができた。菌株によっては塩要求性や、特殊な栄養を要求することがあると考えられたため、海洋資源由来の菌株分離時に、人工海水を添加すること、また栄養源として貝や魚の抽出エキスなどを用いて菌株の取得を行った。その結果、特殊な培地でのみ増殖した菌株を複数得たが、462 株のうち増殖に海水を要求する耐塩性菌株ではなく、絶対海水要求性株 11 株を見出した。絶対海水要求性 *Streptomyces* 属は初めての報告例であるが、これらは海洋環境に適応した放線菌であることが示唆された。これらの菌株の I 型ポリケタイド合成酵素のケトシンターゼドメインの配列を解析したところ、地上由来の放線菌が持つ既知の配列とは相同性が低く、海綿の共生菌のポリケタイド合成酵素と高い相同性を示すことが判明した。二次代謝産物に関して検討を行った結果、これらの海綿由来放線菌より 21 種類の新規化合物を単離に成功した。この他の海洋資源として、海鞘 (2 種類)、海藻 (1 種類) および海底土壌 (3 箇所) より、167 株の放線菌を分離し、合計 1 種類の新規化合物を単離した (他に、カビなど数十株程度分離し、17 種類の新規化合物を見出した)。沖縄県石垣市にて採取した 7 種類のマングローブ土壌からは、計 241 菌株の放線菌を単離した。このうち、9 株は新種である事が示唆され、9 株は生育に海水要求性を示した。これら単離株の二次代謝産物について検討した結果、新規骨格を有する 9 種類の化合物を得た。

以上のことから、沖縄県の天然資源は新種の微生物や新規化合物の分離源として有望である事が示唆された。

P15 未利用真菌のゲノム解析と有用物質生産に関連する遺伝子の解明

独立行政法人 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門
小池 英明

初めて実用化された抗生物質が糸状菌 *Penicillium* の生産するペニシリンであったことに象徴されるように、真菌等の微生物は様々な有用代謝産物を生産することが知られており、産業的にも科学的にも注目されている。我々は真菌が培養条件によって多くの異なる有用な代謝産物を生産することを経験的に知っているが、それらの解析は、その多様性と比べて必ずしも十分に行われていない。また既存の糸状菌のゲノムの解析からも、未知の二次代謝は大量に眠っていることが予想できる。

新たな感染症などが社会問題となる状況下で、新たな薬剤のリード化合物として、糸状菌の二次代謝に期待が寄せられている。従来の研究開発では、生理活性を示す化合物を生産する菌株をスクリーニングした後、生産性の向上は培養条件や人為的な変異体の探索により経験的に行われることが多かった。遺伝子を特定するのに、かなりの資源が必要とされ、実用的でなかったことが原因として挙げられる。しかし、次世代型シーケンサーの登場により、大量の塩基配列データを比較的安価、かつ短時間で得られる現在では、ゲノム塩基配列、遺伝子の情報を用いることで、開発の状況を変えることが可能である。

麹菌 *Aspergillus oryzae* の生産するコウジ酸は、1907年には化合物が発見されていたにも関わらず、100年以上も遺伝子が発見されないままであった。麹菌は2005年にゲノム配列が従来のサンガー法により解読され、12,074個の全遺伝子に対応したプローブを搭載するDNAマイクロアレイが製作されていた。DNAマイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析から、コウジ酸の生産性の異なる条件間で遺伝子の発現プロファイルを比較することにより、コウジ酸の生産に必須の遺伝子を特定することができた。今後の糸状菌のゲノム解読では、次世代型シーケンシングを使用することで、この過程を圧倒的に効率化することが可能となる。

本研究プロジェクトでは、亜熱帯地域に常在する真菌を中心とした糸状菌が様々な培養条件で生産する生理活性物質を、抗菌活性を指標として評価し、有用な代謝物を生産する微生物の候補を探索している。また、有用物質生産に関連する遺伝子の探索や遺伝子発現解析に利用可能な基盤情報の取得を目指し、次世代シーケンサーを用いたシーケンシングを主な手段としたゲノム解析を試みている。これらの解析において特徴的な活性を示した抽出物が由来する真菌のゲノムを解析し、新規機能性物質及びその生合成遺伝子の同定を試みている。その計画、現状の解析結果についてご報告したい。

P16 PHB 貯蔵細菌の 3HB 放出に関する遺伝子の探索

沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
照屋 盛実、ウグチャールズ ウチェンナ、
常盤 豊、世嘉良 宏斗、照屋 正映、
市場 俊雄
財団法人 沖縄科学技術振興センター
下地 真紀子、保 日奈子、照屋 邦子、
佐藤 万仁、小林 靖尚、寺林 靖宣、
平野 隆

現在、県内においてバイオマスを活用した産業活動で発生する副産物の多くは廃棄物として処分され、資源・環境・企業経営上の課題となっており、その解決には副産物バイオマスを高付加価値製品へ変換するための技術の蓄積・高度化が必要となる。

沖縄県工業技術センターでは、副産物バイオマスから生産可能な付加価値の高い素材としてポリ乳酸や PHB (ポリヒドロキシ酪酸) 等の生分解性プラスチックに注目しており、工業生産に向けた基礎技術の開発を行っている。

PHB は 3HB ((*R*)-3-ヒドロキシ酪酸) が重合したポリエステルであり、土壌や水環中の多くの細菌・古細菌でエネルギー貯蔵物質として蓄えられ、細胞内ではタンパク質等と結合した封入体の形態で存在している。菌体から抽出された PHB は精製が難しく不純物を含み、プラスチックとしての成形加工時に異臭を放つ等の問題が指摘されているため、最近ではより精製が容易な 3HB を発酵生産する研究が盛んとなっている。

これまで、沖縄県工業技術センターでは PHB 蓄積細菌に紫外線を照射することにより変異を誘発させ、3HB 生産に有利な形質をもつ菌株を取得し、PHB 蓄積性が 3HB 放出性に変換している等、その特性について明らかにしてきた。これら形質変換にはゲノム変異が関係しており、変異箇所同定によるメカニズムの解明は今後のエンジニアリングにおいて重要な基礎的知見となるものと考えられる。

今回、3HB 放出性へと形質変換した菌株のゲノム DNA を次世代シーケンサーによりシーケンスし、3HB 放出に関する遺伝子の探索を行ったのでその概要を報告したい。

P17 5500xl SOLiD システムのデータ特性と全ゲノム解析

財団法人 沖縄科学技術振興センター

照屋 邦子、佐藤 万仁、下地 真紀子、
保 日奈子、小林 靖尚、寺林 靖宣、
平野 隆

沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
照屋 盛実

次世代シーケンサーの性能は、その登場から数年の間に飛躍的に進歩しており、現在では 100 ギガベースを超える膨大なデータをハイスループットに産出する事が可能となっている。また最近では、より安価なベンチトップ型シーケンサーや、PCR 増幅の不要ないわゆる第三世代型（1 分子）シーケンサーが市場に投入された。加えて、前処理工程においても自動ゲル抽出装置やライブラリ作成自動化装置が開発されるなど、シーケンシング技術は日々進化を続けている。

5500xl SOLiD システムはライフテクノロジーズ社の最新鋭次世代シーケンシングプラットフォームであり、それまでの SOLiD 4 システムから大幅な改良が行われた。読取長の伸長やスループットの向上（最大 180GB）の他、ECC (Exact Call Chemistry) モジュールの導入による精度の更なる向上など、産出されるデータの特性が大きく変化した。

リシーケンシング、デノボアセンブリ、ホールトランスクリプトーム等、様々なアプリケーションが適用可能であるが、データ解析はカバレッジバイアスやエラープロファイル等のデータ特性を踏まえた上で行う必要がある。

本発表では、配列既知のゲノム DNA を用いて 5500xl SOLiD システムのデータ特性の把握を行ったので報告する。

P18 5500xl SOLiD リードを用いた *de novo* アセンブリ

財団法人 沖縄科学技術振興センター

佐藤 万仁、照屋 邦子、下地 真紀子、
保 日奈子、小林 靖尚、寺林 靖宣、
平野 隆

沖縄県工業技術センター 食品・化学研究班
照屋 盛実

次世代シーケンサの登場により、今日ではゲノム情報を大量かつ高速に解読することが可能となった。現在主流となっている第二世代シーケンサはいずれも、断片化・増幅等の工程を経た塩基配列を、各社各様のテクノロジーを用いてハイスループットに解読している。概して1ラン当たり産出可能な処理能力（総解読塩基長）は数100ギガ（10億）塩基にも及ぶが、リード数が数10億個にも上る一方、リード長はたかだか100塩基前後に止まっている。

リード数の多さはリシーケンシングによる変異解析や定量性が求められる発現解析には有利である。他方、リード長の短さは新規配列の構築、即ち *de novo* アセンブリには不利であると考えられてきた。しかし近年、ショートリードを効率よく扱うことのできるアルゴリズム（Greedy法、Overlap Layout Consensus法、De Bruijn Graph法等）を導入したアセンブラの開発が活発に行われ、現実的な精度での新規配列の構築も可能となっている。

一方、産出されるリードには一般的に、各工程において多種多様なノイズ（元配列の断片化時や増幅時に発生するバイアス、断片化配列の読み取り時に発生するエラー等）が混入している。このようなノイズはアセンブリ結果に直接的な影響を与えるため、大量に産出されたリードに対し、効果的かつ効率的な前処理（サンプリング、フィルタリング、トリミング等）を行うことが重要となる。

本発表においては、ライフテクノロジーズ社の最新鋭次世代シーケンサである5500xl SOLiD システムから産出されたショートリードを用いて、カバレッジ特性やクオリティ値等を考慮した前処理が、*de novo* アセンブリに及ぼす影響について事例を挙げて議論する。

P19 Metabolomic comparison of human blood and fission yeast
as a tool of longevity research

Romanas Chaleckis¹, Tomáš Pluskal², Ebe Masahiro²,
Hiroshi Kondoh³ and Mitsuhiro Yanagida²

¹ Graduate School of Biostudies, Kyoto University

² GO Cell Unit, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University

³ Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Abstract

Why do we age? This simple question is still unresolved, while historically several models to explain aging mechanisms have been proposed; Radical theory of aging by Harman in 1956, Calorie restriction by Mckay in 1931, Mitochondrial theory in 1972 etc. In those models, the molecular impact of metabolic shift on longevity is now thought to be a hot topic in the aging research field.

Recently the metabolomics is developing into a powerful technique that allows detection and quantification of large number of metabolites in a small sample. As a tool for longevity research, now we are applying this technique to identify novel biological markers, which would be relevant to aging or metabolic diseases.

In our laboratory we can detect over hundred known metabolites and several hundreds tentatively identified or unidentified substances. Basically the same sample preparation and data analysis methods are used for fission yeast and human blood samples. This allows us to compare both metabolomes qualitatively and semi-quantitatively. Obtained information will facilitate deeper understanding of the basic biology of aging through the comparison of humans and fission yeast cells.

世界で有数の長寿国である本邦でも、男女ともに健康寿命は平均寿命より 6-7 年短いことが知られている。今後さらなる高齢社会の到来とともに寝たきり、要介護者増加が危惧されており、健康寿命と平均寿命の乖離の悪化が予想される。そのような乖離現象の理由の一つは、死亡原因と寝たきり原因の違いによる。前者は内臓疾患が大半を占めるのに対して、後者は脳血管、骨折、など運動器疾患が重要である。よって、今後の予防医学では死亡原因と寝たきり原因疾患の両方をケアすることが望ましい。上記の背景に鑑み、我々は老年内科の高齢者医療における新たな予防医学的取り組みとして、2006 年より京大病院内でアンチエイジング（老化予防）外来・教室をスタートした。アンチエイジング医療は老化に対する関心・知識の増加とともに注目されつつあるが、我々はアンチエイジングを「更年期アンチエイジング」と「高齢者アンチエイジング」の 2 種類と捉え直し、両者の実践が平均寿命と健康寿命両方の延長に寄与できると考えている。具体的には、老化に対する理解・知識を駆使して、従来の臓器別に捉われず総合内科的に予防医学を実践することを目指す。

一方、老化研究は、1960 年代にテイクオフし、1990 年代に分子生物学的発展をみせ、今まさに注目を浴びつつある。しかしながら、老化研究の歴史の中では、1990 年代はテロメア・テロメラーズの発見により、「老化＝テロメア、テロメア＝老化」と語られた時代があり、2000 年代では Sirt1 の発見により、「老化＝Sirt1、Sirt1＝老化」というような風潮もあり、まだ老化そのものの定義が関連遺伝子の発見によって揺らいでいるという入口の段階とも言える。

以上のような老化研究や社会情勢の変化より、老化研究の成果が具体的に医療応用できる可能性が、2000 年ころより生まれてきた。例えば、当初酵母において長寿遺伝子としてクローニングされた Sir2 (Genes & Dev 1999) は、後にヒトやマウスにもそのホモログが存在することが判明した (Sirt1)。Sirt1 の活性ケミカルは最近メタボリック症候群の治療薬となりうる可能性が注目されつつある (Nature 2006)。基礎老化研究の成果が具体的に臨床応用されつつある端的な例と考えられる。以上のような老化研究の知識や成果を、医療に生かそうとして、生まれてきた潮流がアンチエイジング医療と呼ばれるものである。老化研究の最新の成果を、アンチエイジング医療として還元する可能性を追求するために、我々は本プロジェクトの役割を担うこととした。具体的には、柳田らの持つメタボロームという新規デバイスを利用し、京大病院老年内科にて、若年層 (20-30 歳代)、高齢層 (65 歳代以上) の 2 群で、血液サンプルを摂取し、沖縄科学技術大学院大学 (OIST) にてメタボローム解析を行い、上記のように、モデル生物酵母およびヒト血液サンプル両者で、飢餓や老化に影響するであろう低分子マーカー候補同定を試みる。また既知のポリフェノール (レスベラトロールなど) を用いて、経皮吸収の方法、経皮吸収の場所、吸収持続時間、吸収後効果発現開始時間などを、経口と経皮でメタボローム比較検討し、最適かつ効果的方法を見出す。ヒトの個人差も大きいと考えられるので、ヒト検体もいくつか検討し、データ解析検討する。最終的には、沖縄産物の中で、有効と思われる健康産物 (タンカンなど) の抽出物の経皮吸収による効果も判定・解析する。

P21 食の嗜好性に関わる新しい脳内メカニズム解明と肥満症に対する医学応用

琉球大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病 内科学講座 (第二内科)

益崎 裕章

世界に冠たる長寿の島、沖縄が日本屈指の肥満県、糖尿病県に転じ、平均寿命の凋落が続いている（沖縄クライシス）。本州に比べファストフード上陸が20年先行した沖縄では小児期から米国型ライフスタイルの洗礼を受けた働き盛り世代を中心に、糖尿病、高血圧症、冠動脈疾患の急激な蔓延が大きな問題となっている。このような背景を踏まえ、致死的血管病に連なる一連の代謝疾患の基盤病態としての肥満をいかに制御するかは沖縄における健康長寿復興の鍵を握ると言っても過言ではない。

肥満症・メタボリックシンドロームの病態形成には過食・運動不足・過剰ストレス、生体リズム障害という4つの主要要因が関わっているが、従来、臨床の場で実践されてきた食事療法や運動療法には自ずから限界があり、安全性と有効性の両面に優れた抗肥満薬の開発も国際的に未だ成功に到っていない。

最近、私達は高脂肪食を嗜好する視床下部メカニズムに関して、人工甘味料や玄米を用いた新しい研究を進めている。具体例を挙げると、若齢期のマウスに人工甘味料を与えると高脂肪食への嗜好性が高まり、肥満、脂肪肝、糖尿病が悪化することを見出し、その基盤として視床下部における小胞体ストレスの亢進が関わっていることを明らかにした。一方、高脂肪食に対する玄米の添加がマウスにおける高脂肪食への嗜好性を軽減し、結果として優れた抗肥満効果・抗糖尿病効果を発揮することが明らかとなった。この場合にもやはり、玄米成分による視床下部の小胞体ストレスの軽減が食の嗜好性を変容させていることが判明した。低分子化合物の合成を目指す肥満症新規創薬には膨大な時間・労力・費用を要するが、私達が普段から食べている天然物の中から、食の嗜好性を変容させる成分を同定し、医学応用を目指すアプローチは極めて斬新であり、大きな可能性を秘めている。

本講演では、食欲・食行動に関わる最近の臨床医学の進歩を踏まえ、沖縄発の新しい健康長寿復興プランを提案したい。

P22 次世代シーケンサーを用いたメタン発酵複合微生物群の菌叢解析

¹東京農工大学、²沖縄県工業技術センター、

³トロピカルテクノセンター、⁴沖縄科学技術振興センター

武知 文音¹、北嶋 瑞樹¹、照屋 盛実²、塚原 正俊³、鼠尾 まい子³、下地 真紀子³、
佐藤 友紀⁴、照屋 邦子⁴、宮原 弘子⁴、喜久里 育也⁴、城間 安紀乃⁴、佐藤 万仁⁴、
養王田 正文¹

循環型社会の構築や、温室効果ガス抑制に対する関心が高まる中、バイオマスから高効率でエネルギーを得られるメタン発酵が注目されている。メタン発酵は、メタン生成菌だけではなく、様々な微生物が協調することで行われる。バイオマスは、嫌気条件下で嫌気性微生物群により加水分解や酸生成が行われ、メタン生成菌によって、最終的にメタンガスにまで分解される。このため、バイオマスから効率よくメタンガスを得るには、廃棄物の種類や処理槽の運転条件等によって変動するメタン発酵槽内の菌叢を解析し、制御することが重要となる。しかし、メタン発酵に関わる複合微生物系の菌叢解析は詳しく行われておらず、有機物がメタン発酵によって分解されるメカニズムは解明されていない。そこで本研究では、長年安定してメタン発酵を行っている北部資源汚泥化センターからメタン発酵の進行や採取場所など、異なる条件の下水汚泥を採取し、これらの下水汚泥からメタゲノムを抽出して、次世代シーケンサーSOLiD 3によるシーケンス解析を行った。SOLiD 3で得られた配列と、データベース上の様々な微生物の16S rRNAの相同性を調べ、系内の菌叢を解析した。

P23 次世代 DNA シークエンサー SOLiD 3 を用いた新規 *Dehalococcoides* 属細菌の発見と解析

¹東京農工大学、²PaGE Science、³沖縄県工業技術センター、
⁴トロピカルテクノセンター、⁵沖縄科学技術振興センター
坂口 理歩¹、北嶋 瑞樹¹、田村 紀義²、岩本 めぐみ²、照屋 盛実³、
塚原 正俊⁴、鼠尾 まい子⁴、下地 真紀子⁴、
佐藤 友紀⁵、照屋 邦子⁵、宮原 弘子⁵、喜久里 育也⁵、城間 安紀乃⁵、佐藤 万仁⁵、
養王田 正文¹

トリクロロエテン(TCE)などの揮発性有機塩素化物で汚染された土壌や地下水の浄化方法として、嫌氣的バイオレメディエーションが注目を集めている。この浄化は主に *Dehalococcoides* 属細菌が担っているが、単離培養が困難であることから、その知見は限られている。本研究では、TCE 汚染地下水を微生物源として用い、100 μ M のシス 1,2-ジクロロエテンを 3 週間程度でエテンまで完全に分解する集積培養系を構築した。さらに、そのメタゲノムを次世代 DNA シークエンサー (SOLiD 3) で解析することで、優れた TCE 分解能を有する新規 *Dehalococcoides* 属細菌の発見とそのゲノム解析を行った。

SOLiD 3 による解析で得られたタグ配列を、既知の *Dehalococcoides* 属細菌のゲノム配列と比較したところ、*Dehalococcoides ethenogenes* と高い相同性を有する *Dehalococcoides* 属細菌が大部分を占めていることが分かった。さらに、脱塩素化酵素遺伝子の解析から、この菌には、*bvcA* 及び *vcrA* の 2 つのビニルクロライド(VC)脱塩素化酵素遺伝子に加え TCE 脱塩素化酵素遺伝子である *tceA* が存在していることが分かった。このコンソーシアが TCE をエテンまで分解する活性を有していることから、本菌が TCE をエテンまで完全分解する能力を有する新規な *Dehalococcoides* 属細菌であることが分かり、ATV1 株と命名した。また、16S rRNA 配列の比較により、コンソーシアに共存する微生物の特定とその存在量の解析を行った。今回構築した *Dehalococcoides* ATV1 株を中心とするコンソーシアは高いクロロエテン分解能を有しており、バイオレメディエーションの、中でも外部から微生物を投入するバイオーグメンテーションへ利用できる可能性が高いと考えている。

知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業「沖縄生物資源を活用したオンサイト環境浄化およびオイル等高付加価値産物の生産に関する研究開発」の一環として、沖縄の沿岸域および汽水域からラビリンチュラ類を主とした従属栄養性の微細藻類の収集を進めている。

沖縄県内（本島・石垣島・西表島）各地の沿岸域・汽水域から分離源（水中落葉・海藻・海草・砂など）を採集し、1/10GPY 培地を用いて粗培養にかけ、ピペット洗浄法で標的の細胞を直接分離するという方法で株を確立した。2011年7月から現在までに約500株の従属栄養性の微細藻類株を確立したが、ラビリンチュラ類と思われるものの他に、形態的特徴などから渦鞭毛藻類と思われるものなどもいくつか観察された。

一部の株について18S rRNA 遺伝子塩基配列を解析し、得られた塩基配列についてブラストリサーチを行なった。その結果、最も近縁な生物は、*Oblongichytrium* sp. SEK347（一致率99%）、*Labyrinthula zostera*（93%）、*Thraustochytrium* sp.（92%~96%）、*Aurantiochytrium* sp.（90%、91%、96%、97%）、*Cryptocodinium chonii*（99%）、*Caecitellus parvulus*（99%）などであることがわかった。ブラストリサーチにより99%以上一致する株が分離された一方で、87%~95%程度の一致で、今までデータベースに報告されているラビリンチュラ類とは異なる遺伝的に多様な株が分離されていることが明らかになった。また渦鞭毛藻類である *Cryptocodinium chonii* や原生生物である *Caecitellus parvulus* も分離株として確立されていることが明らかとなった。

現行の方法で、多様なラビリンチュラ類と従属栄養性の藻類や原生生物が分離されることが明らかとなり、本方法での分離培養を継続する意義が明らかとなった。今後は分離源や採集場所と分離株との関係について検討し、また、引き続き新しい株の確立、及び形態観察や分子系統解析も進めていく予定である。

琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系
大庭 章裕、須田 彰一郎

藻類には、気生藻類と呼ばれる陸上でも生育する種が存在している。この気生藻類は、岩や土壌の表面など自然にある基質や、建物の壁面などの人工物にも付着して生育する。水中環境と比べ、水分の確保が困難で、太陽光による紫外線の影響や、気温の変化が著しい陸上環境は過酷な環境であり、気生藻類には高温や乾燥、強い紫外線に対する耐性があると考えられる。特に我国で最も南に位置する沖縄では、高温や紫外線、乾燥に抵抗性をもつ気生藻類が分離できる可能性が高い。本研究では、陸上環境の中でも、高温になりやすいガードレールに付着している気生緑藻類に着目し、その分離培養株を確立し、どのような気生藻類が生育しているのか、また、それらの高温、乾燥、紫外線などのストレスに対する耐性メカニズムを明らかにすることを目的とした。

材料は、琉球大学構内、伊計島、石垣島、西表島の道路沿いに設置されているガードレールから、藻類が付着して緑色や赤褐色に着色している箇所を小さく切ったメラミンスポンジで擦り、採集した。採集は、大学構内では3月、4月、6月、7月、11月に10ヶ所から、伊計島は8月に6ヶ所、石垣島は9月に24ヶ所、西表島では10月に31ヶ所でそれぞれ行った。採集した材料は、研究室に持ち帰り、メラミンスポンジをシャーレに移し、約10mlのAF6液体培地に浸して $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、14:10の明暗サイクル、約 $40\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光量子密度の条件で、粗培養を行った。その後、ピペット洗浄法により単細胞分離し、AF6液体培地の入った試験管で培養を行った。

現在までに36株の株が確立された。一部の株について形態観察とDNA抽出を行い、SSU rRNA 遺伝子塩基配列を解析した結果、*Chlorella* 属や *Stichococcus* 属などの一般的な気生藻類の存在が確認された。さらに、天然ゴムの木 (*Hevea brasiliensis*) の組織から報告された *Heveochlorella* 属と SSU rRNA 遺伝子塩基配列がほとんど一致した分離株の存在も確認することができた。多様な気生藻類の存在が確認された。現在は更なる分離培養株の確立を行うよう作業を進めている。

琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系
澄本 慎平、須田 彰一郎

ラン藻は海水や淡水、陸上など多くの環境で生育し、有毒物質を生産するものも知られており、問題となっている。その一方で、ラン藻の生産する有毒物質を医薬品の原料として利用する、有効利用も考えられている。また、陸上は天候により環境が大きく変化しやすく、乾燥や紫外線といったストレスにさらされる環境である。このため、これらのストレスから細胞を守る、何らかの抵抗機構が存在していると考えられる。例えばイシクラゲ *Nostoc* spp. ではスキトネミンやマイコスポリン様アミノ酸(MAA)がこれにあたり、化粧品原料などの有用生物資源となっている。しかしながら、沖縄県内において陸生ラン藻はほとんど研究されておらず、建造物等にどのような陸生ラン藻が着生しているのか知られていない。本研究は沖縄に生育している陸生ラン藻の分類を目的とし、さらにこれらを有用遺伝資源と考え、分離培養株の確立を行っている。本研究はその端緒として、琉球大学構内の建造物に生育する陸生ラン藻の収集を試みた。

サンプルは琉球大学構内における建物の壁や記念碑などで黒や赤などに着色した付着物を採集し、BG11 培地と窒素源を取り除いた BG11-N 培地の2種類を用いて培養を行った。これを数週間粗培養し、ピペット洗浄法により単藻分離した。確立された株は形態学的、分子学的手法を用いて分類を行なう。一部の株で 16S rRNA 遺伝子塩基配列を決定し解析した結果、*Chroococcidiopsis* sp. *Leptolyngbya* sp. *Nostoc linckia* var. *arvense* などが確認された。これらは、一般的な陸生ラン藻として報告されているものである。さらに、西表島、石垣島でサンプリングを行い、窒素源の異なる PRO-2 培地も加えて分離培養を継続し、採集地の拡大、さらなる分離株の増加を試みている。

また、今後は確立された株を用いてアルテミアバイオアッセイを行い、毒性物質の生産も確かめる予定である。

P27 那覇市国場川におけるラビリントウモロコシ類について

琉球大学 理学部 海洋自然科学科 生物系
瀬戸 雄飛, 須田 彰一郎

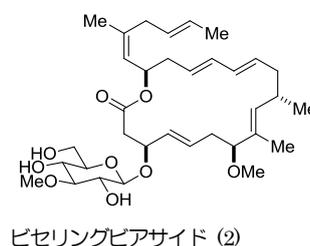
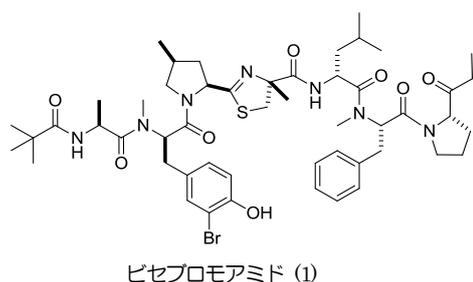
ラビリントウモロコシ類は、ラビリントウモロコシ目とヤブツボカビ目から構成される生物群である。特にヤブツボカビ類は、高度不飽和脂肪酸やスクアレンといった高付加価値産物の生産能力が高く食糧や健康、燃料分野などで注目を集めている。また、海洋での分解者として大きな役割を果たしているとの報告があり、汚水浄化への応用も期待されている。本研究では、水質状態の悪い那覇市国場川の下流域でサンプリングを行い、各月の出現状況と水質のデータを収集すると共に汚水浄化に有用な株の収集を目的とした。

ヤブツボカビ類のサンプリングは、那覇市国場川(字上間)で 2011 年 4 月から開始した。サンプリングでは、砂、水中の落ち葉、植物、河川水を採取した。また、多項目水質計を用いて pH、DO、電気伝導率、濁度、水温、塩分濃度を測定した。さらに、7 月からパックテストを用いて COD、リン、硝酸、亜硝酸、アンモニアの簡易測定を行った。分離・培養には、90%海水 1L にグルコース 0.2g、トリプトン 0.1g、酵母エキス 0.05g、アンピシリンとストレプトマイシンを各 1mg 加えた 1/10GPY 液体培地を使用した。3ml の 1/10GPY 培地の入った試験管に採取物を 0.5ml、落ち葉などの場合は、0.5cm²程度加え、1 日から 1 週間、特に光を与えず室温で行った。そして、倒立顕微鏡を用いてヤブツボカビ類の出現を確認し、ピペット洗浄法により、栄養細胞または遊走細胞を単細胞分離して株を確立した。現在までに 7 月は 3 株、8 月は 6 株確立できた。また、4 月と 5 月、9 月は、出現が確認できなかった。6 月は、出現は確認できたが株を確立できなかった。分離株は、クライオチューブで培養液と 20%グリセロールを 1:1 の割合で混合して冷蔵庫で一晩放置した後、-80℃のフリーザーで凍結保存した。今後は、さらに定期・定点採集を継続し、分離株を増やす予定である。また下流域から上流域にかけて採集し、どの程度の塩分濃度の水域まで生育が確認されるかも合わせて調査する予定である。また確立した株については、DNA を抽出し分子遺伝学的に同定を進めるとともに、比較的増殖の良い株を選別し、汚水・廃水の増殖への影響も調べる予定である。

微細藻類は、光合成などの生化学的研究や生育などの生理学的研究の材料として古くから使われてきた。また1980年頃から、微細藻類がつくる生理活性物質をはじめ多様な有用成分の探索が活発に行われてきた。その結果、微細藻類はエネルギー資源の元となる炭化水素や脂肪酸、また新規で多彩な化学構造を有し、多様な生物活性や顕著な毒性を示す生理活性物質を生産することが明らかになった。最近では、微細藻類の研究が進む中、DHAやカロテノイド類、アスタキサンチンなどの有用物質を生産する株の利用が進められている。さらに、微細藻類は、約10万種にもおよぶ多様性を有しているといわれており、まだまだ未知の生理活性を有する化合物が多くあるものと考えられている。従って、医薬品や機能性食材の候補物質探索研究ターゲットの宝庫として有望視されている。

我々は沖縄で採集したシアノバクテリア *Lyngbya* sp. を用い、Hela S₃ 腫瘍細胞に対する細胞毒性を指標にして新規生理活性物質の探索を行った。その結果 2 種の細胞毒性物質、ビセブロモアミド(1)及びビセリングビアサイド(2)を単離し、各種スペクトル解析及び誘導反応により、それぞれの絶対立体構造を決定した。

ビセブロモアミドを 39 種類のヒト癌細胞に対してスクリーニングした結果、各種癌細胞に対して強い増殖阻害活性を示し、その GI₅₀ の平均値は 40 nM であった。また、非常に強いプロテインキナーゼ阻害活性を示した。特に ERK のリン酸化を 10~0.1 μM において選択的に阻害し、AKT、PKD、PLCγ1 や S6 リボソームタンパク質などのリン酸化には全く影響しない事がわかった。またビセリングビアサイドを 39 種類のヒト癌細胞に対してスクリーニングした結果、脳腫瘍細胞 SNB-78(GI₅₀ 36 nM)及び肺癌細胞 NCI H522 (GI₅₀ 67 nM)に対して特に強い増殖阻害活性を示した。ビセリングビアサイドは増殖阻害有効濃度が十分低く、また既存の抗癌剤と感受性パターンが異なることから、新規の作用機作を持つと期待される。



P29 インシュリン分泌を惹起する GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) 分泌促進活性を持つ天然物のスクリーニング

ファルマフロンティア株式会社

秋山 清隆

オーピーバイオファクトリー株式会社

金本 昭彦

(背景)

腸管にはホルモン分泌細胞が存在し、食事成分に対応して種々の腸管ホルモンを分泌する。そのうちのひとつである GLP-1 は血中に分泌され、膵 B 細胞の GLP-1 受容体を介して、グルコース依存的なインスリン分泌を促進する。近年、GLP-1 のアナログの投与、あるいは GLP-1 分解酵素である DPP4 阻害剤が糖尿病薬として開発され、これらは今後世界レベルで年商 1 兆億円をこえる次世代糖尿病薬になるものと期待されている。このようにその効果が顕著な GLP-1 に対しては、更に GLP-1 分泌促進化合物の開発に興味を持たれている。辻本ら (京都大学薬学部) は、長鎖脂肪酸が、腸管の L 細胞に発現する G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) である GPR120 を介して、GLP-1 の分泌を促進することを明らかにし、GLP-1 分泌促進化合物の開発のためのターゲットのひとつが提示された。

(目的)

付加価値の高い GLP-1 分泌促進活性をもつ脂肪酸を、ラビリンチュラ、微細藻類などの天然物から探索する。

(これまでの成果)

GLP-1 分泌促進活性を保持する化合物を探索するためのスクリーニング系として、細胞が分泌する GLP-1 を抗 GLP-1 抗体を用いた ELISA 系を構築した。アッセイには、① GPR120 を発現するマウス腸管細胞由来細胞株、② vivo に近い系として腸管上皮細胞由来のプライマリーカルチャーの細胞を用いる 2 つのアッセイ系を構築した。

今後、これらのスクリーニング系を用いて、GLP-1 分泌促進活性をもつ天然物由来産物のスクリーニングを実施する。

知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業 委託業務報告書

平成24年3月31日

財団法人 沖縄科学技術振興センター

〒900-0029 沖縄県那覇市旭町112-18

沖縄県旭町会館 2F

電話：098-866-7500

本報告書に記載されている記事を許可なく転載することを禁じます。