

汚染履歴が不明な土壌・水質中に含まれる化学物質を網羅的かつ迅速に検出する技術の開発

研究成果活用プラザ福岡における育成研究 平成 14 年度採択課題
「担子菌ゲノムマイクロアレイ技術による迅速・網羅的環境モニタリング」



代表研究者：九州大学大学院 農学研究院・森林資源科学部門
教授 割石博之

担子菌は細菌とは異なり、一菌株で多岐にわたる化学物質の分解を行うことが知られている。この応答機構を環境モニタリングへ応用した。 *Phanerochaete chrysosporium* に種々の化合物添加し、それに対する遺伝子およびタンパク質発現パターンをライブラリー化することで、汚染履歴が不明な試料を投与した際の遺伝子・タンパク質発現動態解析から、そこに含まれる化学物質の推定を行う。

■ 研究内容、研究成果

刺激（ケミカルストレス）に対する細胞応答を DNA マイクロアレイ法やプロテオーム分析法によって解析する技術は既に確立されている。本申請研究では、その逆アルゴリズムによる解析、すなわち、遺伝子およびタンパク質発現パターンからの刺激（化学物質）を同定するシステムの開発を試みた点が新規かつ独自のものである。さらに、刺激を感受する細胞として担子菌を用いたことも本研究の新たな点である。なお、担子菌として、ゲノム全塩基配列が決定された *Phanerochaete chrysosporium* を用いた。地球上で最も難分解性の天然芳香族高分子であるリグニン（樹木成分）中には多岐にわたる環境汚染物質の骨格構造が含まれており、リグニン分解菌である担子菌には、環境浄化微生物として多くの注目が寄せられている。

汚染履歴が不明な土壌・水質中に含まれる化学物質は多岐にわたるものであり、従来の化学分析法では、汚染物質種によって最適分析法が異なり、短時間で網羅的な解析をすることは難しい。しかし、本法によれば、有機化合物から重金属類まで、1 回の実験で同時に解析することが可能となる。本システムを効率よく環境モニタリングに適用するためには、これまでに報告のない、担子菌の DNA マイクロアレイチップを作製することおよびプロテオーム解析法の確立をすることがまず必要であり、さらに、既知化合物添加による遺伝子およびタンパク質発現パターンをライブラリー化することであった。定量性では化学分析法を凌駕することは難しいものの、短時間での網羅的解析では圧倒的に有利である。

成果として、*P. chrysosporium* 全ゲノムの 96% 以上をカバーするマイクロアレイチップを作製し、月産 100 枚超を達成した。開発した実験技術を用い、国の定める水質中の分析化合物 87 種の化合物添加に対する遺伝子およびタンパク質発現パターンを解析した。また、本育成研究中、*P. chrysosporium* ゲノムより 154 種のシトクロム P450 遺伝子の存在を見出した。そのうち 140 分子種について cDNA の獲得に成功し、P450 マイクロアレイチップの作製も完了した。本研究成果は、担子菌のケミカルストレス応答をトランスクリプトームおよびプロテオームレベルで行ったはじめての研究例でもある。

■ 今後の展開、将来の展望

本システムに対する基本特許は申請済であるが、システムの心臓部というべき遺伝子およびタンパク質発現パターンライブラリーの特許化は難しい。そのため、ライブラリー情報に対する秘密保守が重要であり、事業化としては受託分析を目指すことが得策であると判断した。事業化に向けては、システムの完全構築を行ってからの発表が望ましい。また、環境モニタリングの市場は数百から数千億円規模であり、ダイオキシン類に対する簡易測定法が公定法として認められたことから、本技術の可能性は大きく開けたと考えている。

本育成研究終了後もライブラリーのさらなる充実を図る必要がある。また、受託分析として事業化を進める際、分析速度の向上に向けて、解析ソフトウェアの開発が必須であり、研究レベルでは既に開始している。受託分析システムのプロトタイプは、遅くとも 2007 年までに確立する。

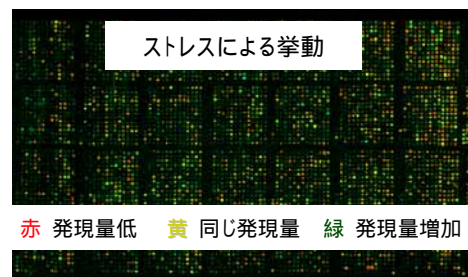
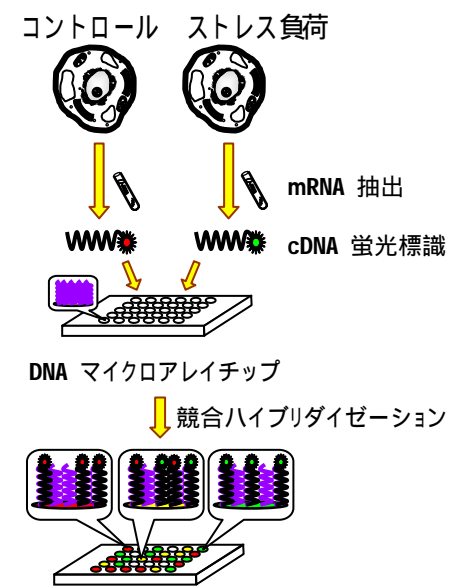


図1 DNA マイクロアレイ法による遺伝子発現パターンの解析

担子菌ゲノムの96%をカバーするマイクロアレイチップを作製した。

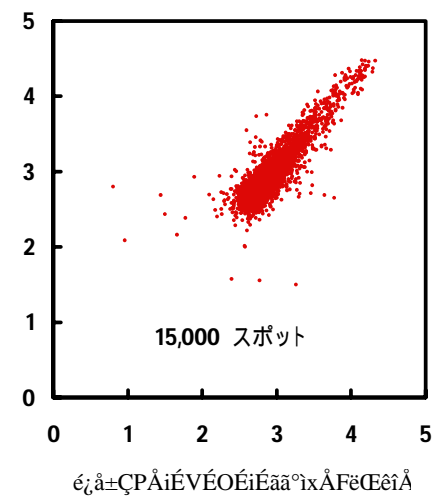


図2 担子菌ゲノムマイクロアレイの再現性(スキャッタープロット)

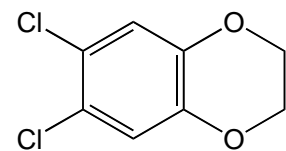


図3 本研究で用いたダイオキシンモデル化合物(特許申請済)

本化合物添加と2,3,7,8-DCDD添加による遺伝子発現パターンの類似性を確認した。さらに、本化合物分解に関わる遺伝子およびタンパク質を同定した。

■ 研究体制

- ◆ **代表研究者**
九州大学大学院 農学研究院・森林資源科学部門 教授 割石博之
- ◆ **研究者**
佐伯和利(九州大学 生物環境調節センター)、広城吉成(九州大学大学院 工学研究院)
岡田公一((株)クボタ)
山田修司、鶴友紀子、親泊政二三(科学技術振興機構)
- ◆ **共同研究機関**
九州大学、(株)クボタ、科学技術振興機構

■ 研究期間

平成15年3月 ~ 平成17年9月