

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26292182

研究課題名(和文) 地熱環境における好熱性微生物によるシリカバイオミネラリゼーション形成の統合解析

研究課題名(英文) Investigation of biosilicification mechanism in geothermal environment

研究代表者

土居 克実 (Doi, Katsumi)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：40253520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、地熱環境中で形成されたシリカ沈殿の菌相解析および菌体と過飽和シリカとの関連性を解析し、シリカバイオミネラリゼーションの機構を解明することを目的とした。

まず、メタゲノム解析から、地熱熱水とシリカスケール中の微生物相の差異から、シリカスケールに特異的に生息する菌株を過飽和シリカ含有培地中で培養し、シリカ沈殿能を検討した。この結果、シリカと相互作用するのは *T. thermophilus* の菌体表層に存在するペリプラズム局在性 ABC transporter であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：This work aims to investigate biosilicification mechanism in geothermal environment. To complete the study, we carried out metagenomic analysis of microflora in geothermal water and silica scale formed in the geothermal water. Comparative genome analysis showed specific hyperthermophilic microorganisms habitat in only silica scale. According to the results, we examined biosilicification abilities of *T. thermophilus*, *G. kaustophilus*, and *P. calidifontis* as representatives. Among these thermophiles, availability of silica biodeposition of *T. thermophilus* was significant. We conclude that cell surface proteins of *T. thermophilus* (molecular weight; 45, 57, 70 kDa) function to interact with supersaturated silica in environment. These proteins are annotated periplasm localized ABC transporters by ESI-MS/MS analysis.

研究分野：微生物遺伝子資源学

キーワード：シリカ バイオミネラリゼーション メタゲノム *Thermus* *Geobacillus* 鉄飢餓 プロモーター

1. 研究開始当初の背景

高度好熱菌や超好熱アーキアなどが生息する地熱環境では、地下深部のマグマによって加熱された地下水が岩盤、地層の割れ目を通じ、高温、高圧状態で地上に湧出している。このような高温の地下熱水中には高濃度かつ様々な種類の金属イオンが溶出しており、原始地球に類似した環境を呈していると考えられる。このような高濃度金属イオンが存在する環境も、高温、高塩濃度、強酸・強アルカリ環境と同様、微生物にとって極限環境であると考えられる。ところが、無機金属イオンと微生物の関連についての研究は、常温菌を対象に進められ、高濃度の金属イオンが存在する地熱環境に生息する極限環境微生物と無機金属イオンとの関連性に関する知見は極めて少ない。シリカ(SiO₂)は地殻中に最も多く存在する物質であり、水にはケイ酸(Si(OH)₄)として溶解し、その飽和濃度は温度・圧力・pHに依存する。ケイ酸は温度・圧力の低下により過飽和になると互いに脱水縮合し、ポリケイ酸を形成することでコロイドとなり水溶液中に安定に存在する。したがって過飽和シリカの溶液から固体状シリカは沈降しにくい。地熱地域では、高温・高圧下でシリカが飽和した地下水が噴出し、地表付近の熱水中ケイ酸濃度は過飽和に達しているが、上記のシリカの化学状態のため、沈殿は容易に起こらない筈である。ところが、自然界ではシリカ沈殿物が普遍的に観察される。このようなシリカ沈殿は圧力や温度、他の共存金属イオンとの相互作用を考慮した無機化学的な形成メカニズムでは説明不可能で、無機化学分野ではシリカスケール形成が注目の研究対象であった。

2. 研究の目的

極限環境下でのシリカ-無機金属イオン-微生物細胞の関連はほとんど知られていない。そこで本研究では、各環境中で形成されたシリカ沈殿中の菌相解析と無機金属種の解析を行い、両者の関連性を追究する。そして、それぞれの金属イオンと菌の生育を網羅的・経時的に明らかにし、金属元素応答タンパク質や応答に関する遺伝子など、各金属元素に対する分子応答機構を詳細に明らかにする。これらを統合して、シリカバイオミネラリゼーションの解明と利用を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) シリカ沈殿物のメタゲノム解析

長崎県小浜温泉の熱水湧出口に形成されたシリカスケールおよび地熱熱水を採取し、それぞれからDNAを分離・精製した。これをPCR増幅し、得られた増幅断片をMiSeqを用いたメタゲノム解析を行なった。得られたゲノム情報から、それぞれのシリカ沈殿物の主要菌群を比較検討した。

(2) シリカスケールに生息する主要微生物のシリカ存在下での生育特性解析

シリカ沈殿中に生息すると考えられる好熱性微生物 *Pyrobaculum calidifontis*、*Geobacillus kaustophilus*、*Thermus thermophilus* をシリカ含有培地(600 ppm シリカ含有・非含有)に様々な濃度で添加し、培養を行い、菌の増殖曲線を作製すると共にシリカ沈殿の有無を検討した。

(3) 好熱性微生物におけるシリカ凝集の影響検討

P. calidifontis、*G. kaustophilus*、*T. thermophilus* をシリカ含有培地でそれぞれ90°C、55°C、70°Cで振盪培養し、培養液を遠心分離によって回収した上清の溶存シリカ濃度測定をICP-AES およびモリブデンイエロー法にて測定した。次に、細菌をEDTA処理することで、表面金属イオンの除去を行った洗浄後のペレットを500ppmシリカ溶液に懸濁し、70°Cで24時間振盪した。これらの懸濁液をモリブデンイエロー法でシリカ濃度を測定した。

(4) シリカ凝集に関与する物質の探索

T. thermophilus 菌体をオートクレーブ処理したもの、菌体にテトラサイクリン添加したものについてシリカ吸着量を計測した。さらに、*T. thermophilus* 菌体を超音波破碎し、不溶性画分、細胞質画分、膜画分に分画した後、それぞれを500ppmシリカ溶液に懸濁し、24時間後の上清中のシリカ濃度を測定した。

(5) シリカ凝集に関与するタンパク質の特定

T. thermophilus 菌体膜画分を500ppmシリカ溶液に懸濁し、24時間後に遠心分離し、沈殿物を回収した。これを2% (w/v) SDS と3% (w/v) CHAPS で処理し、シリカと結合していないタンパク質を除去した。残存した画分にNH₄Fを加えてシリカを溶解し、抽出物を得た。これらをSDS-PAGEに供し、検出されたバンドを切り出し、ESI-MS/MSによってタンパク質の同定を行った。

(6) シリカ凝集に関与するタンパク質の発現

同定したタンパク質をコードする遺伝子のうち、TTHA1336産物の大腸菌による発現を試みた。*T. thermophilus* ゲノムDNAからPCR増幅し、pET21aにクローニングした。得られた組換えプラスミドを大腸菌BL21 (DE3) Rosetta2に導入し、本菌体破碎液よりNi²⁺担持Chelating Sepharose FFによって目的タンパク質を精製した。

(7) シリカスケールから分離した *Thermus thermophilus* TMY株のゲノム解析

シリカスケールから分離した *T. thermophilus* TMY株からゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサーPacBio RS IIを用い、ゲノム配列を決定した。決定したゲノム情報を、他の分離株ゲノムや既報の類縁菌株との比較ゲノムを行った。

(8) シリカスケール形成機序となるシリカ誘導性タンパク質をコードする遺伝子の推定プロモーター領域下流に *Thermus* sp. A4由来のβ-galactosidase (β-gal)遺伝子をレポーターとしてプロモーター活性を測定した。

4. 研究成果

塩濃度の高い臨海域の小浜温泉の地熱熱水で形成したシリカスケールおよび地熱熱水からそれぞれゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて地熱熱水およびシリカスケール中に存在する微生物の 16SrRNA 遺伝子配列を解析するための菌体 DNA 抽出法を検討し、得られた最適方法により DNA を分離、微生物相を解析した。

この結果、地熱熱水とシリカスケール中の微生物相には大きな差異が認められ、地熱熱水中で最も多く検出されたグラム陰性の好熱性細菌で温泉や海底火山近傍に生息し、水素を酸化して増殖することを特徴とする *Aquificae* 門に属する細菌がシリカスケール中では少ない一方、シリカスケール中には γ -Proteobacteria 門に属するグラム陰性細菌が多数含まれていることがわかった。また、いずれのサンプルでも高度好熱性細菌である *Thermus* 属、*Geobacillus* 属が存在することがわかった。

この結果から、上記の検出菌株のうち、*T.*

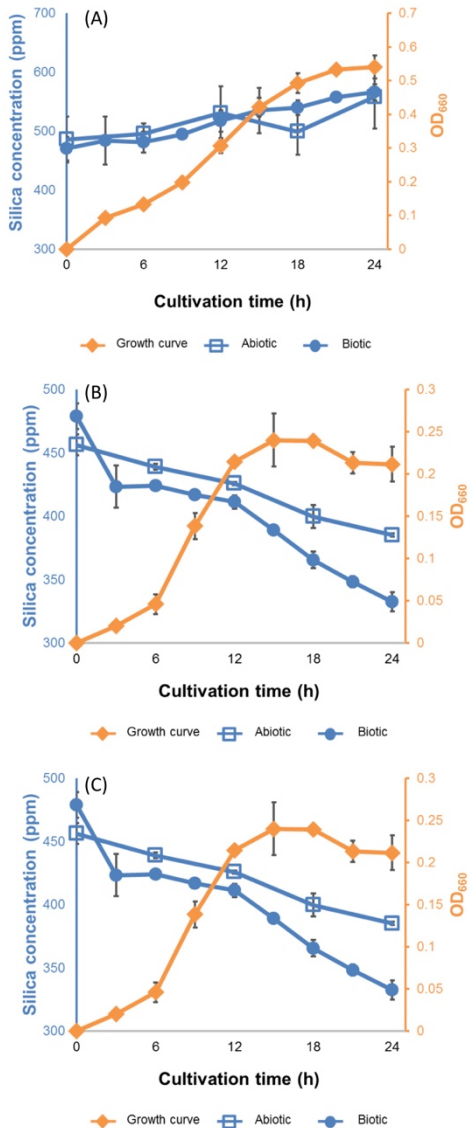


Fig. 1 各好熱性微生物培養液における溶解シリカ濃度の経時的変化
培養液を遠心分離により菌体と上清に分離した溶解シリカ濃度の経時変化。橙：増殖曲線、青四角：培地だけの溶解シリカ濃度、青丸：菌体存在下の溶解シリカ濃度。(A) *P. calidifontis*、(B) *G. kaustophilus*、(C) *T. thermophilus*

thermophilus、*G. kaustophilus* を選抜し、対象株として超好熱性アキアの *P. calidifontis* を対照として、それぞれ過飽和シリカ含有培地中で培養し、それぞれの培養時にシリカ沈殿を生じるか否かを判定しシリカ沈殿能を比較したところ、*T. thermophilus*、*G. kaustophilus* では有意なシリカ沈殿が認められたが、*P. calidifontis* では菌株由来の沈殿は認められなかった(Fig. 1)。

次に、*T. thermophilus* 菌体をシリカ溶液に添加し 70°C で 24 時間振盪後、沈殿を除去し上清中のシリカ濃度を測定した。また、菌体をオートクレーブ処理したもの、および、菌体にテトラサイクリンを添加したものについても同様の操作を行った。さらに、*T. thermophilus* 菌体を超音波破碎し、不溶性画分、細胞質画分、膜画分に分離した後、それぞれをシリカ溶液に懸濁し、24 時間後の上清中のシリカ濃度を測定した。培地成分を含まない模擬地熱水と菌体を反応させたところ、上清のシリカ濃度は 70°C におけるシリカの飽和濃度 (約 300ppm) にまで低下しており、過飽和分のシリカと菌体が反応した事が示唆された。また、静菌作用を示すテトラサイクリンを加えた反応系でも同様にシリカ濃度の減少が見られたが、オートクレーブによって変性させた菌体では、シリカ濃度の減少は菌体そのものを加えた反応系と比べ 69%にとどまったことから、シリカと相互作用しているのは、菌体が細胞外に放出する代謝物質ではなく菌体そのものであり、且つ、熱によって変性する物質であると推察された(Fig. 2)。

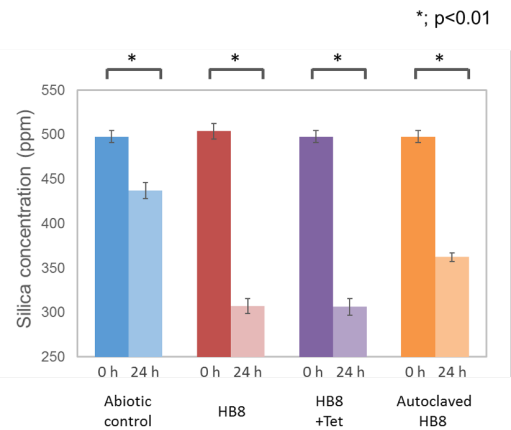


Fig. 2 静菌剤添加、オートクレーブ処理による *T. thermophilus* HB8 のシリカ凝集への影響
青色：Control、赤色：HB8 (-テトラサイクリン)、紫色：HB8 (+テトラサイクリン)、橙色：オートクレーブ処理HB8。

さらに、細菌の構成成分がシリカ凝集に関与するか検討するため、菌体破碎液を分離し、各画分をシリカ溶液と反応させたところ、膜画分が最も多くのシリカを凝集した。

膜画分成分のうち、まずタンパク質に着目し、シリカと相互作用するタンパク質の抽出を試みた。界面活性剤による洗浄を経て、NH₄F でシリカを溶解させた後に抽出されるタンパク質は、シリカ沈殿物に内包されているか、シリカと非常に強い相互作用を示す分子であると考えられるため、抽出したタンパク質を SDS-PAGE で確認したところ、約 45、

57、70 kDa の位置にバンドが検出された(Fig. 3)。これらの ESI-MS/MS の結果、57kDa と 70 kDa のバンドは、ペリプラズム局在性 ABC

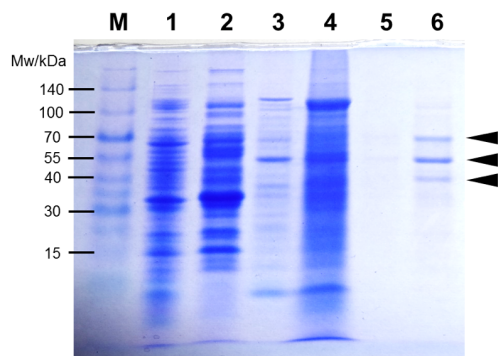


Fig. 3 シリカ誘導促進タンパク質の抽出
シリカ溶液と膜画分を反応させ、段階的に界面活性剤で洗浄した際に得られる画分をSDS-PAGEに供した。レーンM: Morecular Marker, レーン1: 膜画分、レーン2: 反応上清、レーン3: 2% SDS沈殿物画分、レーン4: SDS洗浄画分、レーン5: CHAPS沈殿物画分、レーン6: シリカと相互作用した抽出画分。レーン6に見られた、シリカと強く結合している3つのタンパク質の位置を矢印で示している。

transporter であることが確認された。

また、八丁原地熱発電所内の滞留槽中に形成されたシリカスケールから分離された *T. thermophilus* TMY 株のゲノムは 2,121,526-bp の環状ゲノムで G+C 含量 69.0%、2,500 個の遺伝子が推定された(Fig. 4)。また細胞中には 19,139-bp からなるプラスミド pTMY (G+C 含量 67.4%) が存在し、本プラスミドは 28 個の遺伝子が推定できた。

さらに、シリカ誘導タンパク質の推定プロモーター領域(Psip)および His-tag をプラスミドベクター~pYK596 に挿入した組換えプラスミド pSix を構築した。pSix のクローニングサイトに *Thermus* sp. A4 由来の β -gal 遺伝子をクローニングし、 β -galactosidase 活性を測定した。その結果、400ppm 及び 600ppm シリカ添加による発現誘導が確認された。この発現誘導は、培養 2 時間後には確認され、本プロモーターはシリカ添加に迅速に反応すると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線) カッコ内数字は掲載年順を表す

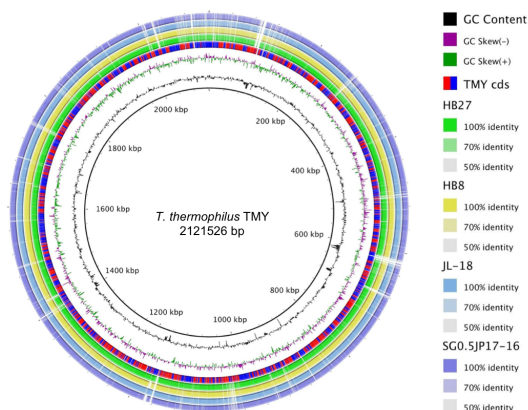


Fig. 4 シリカスケールより分離した *Thermus thermophilus* TMY のゲノム構造
GC含量、コード領域 (cgs)、他の *Thermus* 属細菌ゲノムとの相同領域を示す。

〔雑誌論文〕 (計 11 件) 全て査読有

(1) Y. Fujino, Y. Nagayoshi, T. Ohshima, S. Ogata and K. Doi, Complete Genome Sequence of *Thermus thermophilus* TMY, Isolated from a Geothermal Power Plant, *Genome Announc.*, **5**, 2017, e01596-16.

DOI: 10.1128/genomeA.01596-16.

(2) K. Doi, Y. Fujino, Y. Nagayoshi, T. Ohshima and S. Ogata, Complete genome sequence of thiostrepton-producing *Streptomyces laurentii* ATCC 31255, *Genome Announc.*, **4**, 2016, e00360-16.

DOI: 10.1128/genomeA.00360-16.

(3) Y. Nagayoshi, K. Kumagai, K. Mori, K. Tashiro, A. Nakamura, Y. Fujino, Y. Hiromasa, T. Iwamoto, S. Kuhara, T. Ohshima and K. Doi, Physiological Properties and Genome Structure of the Hyperthermophilic Filamentous Phage ϕ OH3 Which Infects *Thermus thermophilus* HB8, *Front Microbiol.*, **7**, 2016, 50.

DOI: 10.3389/fmicb.2016.00050.

(4) Y. Fujino, R. Tanoue, T. Yokoyama and K. Doi, A tightly regulated expression system for *E. coli* using supersaturated silicic acid, *Biotechnol. Lett.*, **38**, 2016, 1381-1387.

DOI: 10.1007/s10529-016-2118-z

(5) Y. Fujino, Y. Nagayoshi, M. Iwase, T. Yokoyama, T. Ohshima and K. Doi, Silica-induced protein (Sip) in thermophilic bacterium, *Thermus thermophilus*, responds to low iron availability, *Appl. Environ. Microbiol.*, **82**, 2016, 3198-3207.

DOI: 10.1128/AEM.04027-15

(6) K. Sakihara, J. Maeda, K. Tashiro, Y. Fujino, S. Kuhara, T. Ohshima, S. Ogata and K. Doi, Draft Genome Sequence of Thiostrepton-Producing *Streptomyces azureus* ATCC 14921, *Genome Announc.*, **3**, 2015, e01183-15.

DOI: 10.1128/genomeA.01183-15.

(7) J. Kobayashi, J. Yukimoto, Y. Shimizu, T. Ohmori, H. Suzuki, K. Doi and T. Ohshima, Characterization of *Lactobacillus salivarius* alanine racemase: short-chain carboxylate-activation and the role of A131, *Springerplus*, **4**, 2015, 639.

DOI: 10.1186/s40064-015-1335-6

(8) H. Suzuki, J. Kobayashi, K. Wada, M. Furukawa and K. Doi, Thermoadaptation-directed enzyme evolution in an error-prone thermophile derived from *Geobacillus kaustophilus* HTA426, *Appl. Environ. Microbiol.*, **81**, 2015, 149-158.

DOI: 10.1128/AEM.02577-14

(9) T. H. Bang, H. Sahara, K. Doi, H. Ishikawa, K. Fukami, G. P. Parajuli, Y. Katakura, S. Yamashita, K. Watanabe, M. K. Adhikari, H. K. Manandhar, R. Kondo and K. Shimizu, Wild mushroom in Nepal: Some potential candidates as antioxidant and ACE inhibition sources, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2014**, 2014, 195305.

DOI: 10.1155/2014/195305

(10) H. Akita, Y. Imaizumi, H. Suzuki, K. Doi

and T. Ohshima, Spectrophotometric assay of D-isoleucine using an artificially created D-amino acid dehydrogenase, *Biotechnol. Lett.*, **36**, 2014, 2245-2248.

DOI: 10.1007/s10529-014-1597-z

(11) R. Ogura, T. Wakamatsu, Y. Mutaguchi, K. Doi and T. Ohshima, Biochemical characterization of an L-tryptophan dehydrogenase from the photoautotrophic cyanobacterium *Nostoc punctiforme*, *Enzyme Microb. Tech.*, **60**, 2014, 40-46.

DOI: 10.1016/j.enzmictec.2014.04.002.

[学会発表] (計 33 件)

(1) M. Kim, M. Hirose, H. Martono, Y. Nagayoshi, T. Oshima, Y. Fujino, K. Doi: Characterization and analysis of domain-function relationship in thermostable endolysin from template bacteriophage ϕ OH2, 日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年 3 月 17 日、名城大学 天白キャンパス

(2) 村井雄大、森田直樹、土居克実、久原哲、田代康介、牟田滋: エマルションドロップレットを用いた微生物培養、日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年 3 月 17 日、名城大学天白キャンパス

(3) 藤野泰寛、渡邊修平、土居克実: *Thermus thermophilus* を宿主とするシリカ誘導性異種タンパク質発現システムの構築、日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年 3 月 16 日、名城大学天白キャンパス

(4) 山迫彩華、サンソントトマス シリンシオン、藤野泰寛、土居克実: 発酵現場より単離した乳酸球菌ファージ Q1 の特性およびゲノム解析、日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年 3 月 16 日、名城大学天白キャンパス

(5) 渡邊恭伸、大森勇門、土居克実、尾崎清和、大島敏久: 好熱好アルカリ性 *Geobacillus toebii* OIT60-9-2 株を宿主とするウイルス ϕ IN1 の分離・性状解析、日本農芸化学会 2018 年度大会、2018 年 3 月 16 日、名城大学天白キャンパス

(6) 永吉佑子、相川浩輝、中村彩乃、渡邊修平、藤野泰寛、土居克実: 地熱環境より分離した *Thermus* 属繊維状ファージのゲノム比較、日本ゲノム微生物学会第 12 回年会、2018 年 3 月 7 日、京都大学桂キャンパス

(7) 千羽啓太、黒木未知瑠、白澤拓海、原田額郎、藤野泰寛、片倉喜範、土居克実: ファージ由来溶菌タンパク質 Holin の膜穿孔機構を応用したガン細胞へのアポトーシス誘導、第 24 回日本生物工学会九州支部 沖縄大会、2017 年 12 月 9 日、琉球大学

(8) 千羽啓太、黒木未知瑠、白澤拓海、原田額郎、片倉喜範、土居克実: 各種ガン細胞におけるバクテリオファージ由来溶菌タンパク質 Holin のアポトーシス誘導、日本分子生物学会第 40 回年会、2017 年 12 月 8 日、神戸国際会議場

(9) S. Sunthornthummas, O. Pringsulaka, Y. Fujino and K. Doi: Characterization of

Lactobacillus paracasei phage ϕ T25 from fermented milk in Thailand, 日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部 2017 年度合同大阪大会、2017 年 9 月 21 日、大阪府立大学

(10) 土居克実: バクテリオファージ研究の新世紀 ~ナノ材料創製からガン治療まで~、第 54 回化学関連支部合同九州大会(招待講演) 2017 年 7 月 1 日、北九州国際会議場

(11) 岡田智紗、藤野泰寛、横山拓史、土居克実: 好熱性細菌 *Thermus thermophilus* HB8 のシリカ凝集促進物質の探索、第 23 回 日本生物工学会九州支部 飯塚大会、2016 年 12 月 3 日、九州工業大学 飯塚キャンパス

(12) 千羽啓太、黒木未知瑠、原田額郎、片倉喜範、土居克実: ファージ由来溶菌タンパク質 Holin はミトコンドリア局在によりアポトーシスを誘導する、日本分子生物学会 第 39 回 (2016 年) 年会、2016 年 12 月 2 日

(13) K. Chiba, M. Kuroki, G. Harada, Y. Katakura and K. Doi: Apoptotic death of cancer cells using holin, lytic protein from bacteriophage, The 13th International Joint Symposium between Korea and Japan (国際学会), 2016 年 11 月 9 日, Hotel InterCiti (韓国)

(14) M. Kim, H. Martono, Y. Nagayoshi, J. Maeda, Y. Fujino and K. Doi: Characterization of thermostable lytic proteins from *Thermus* bacteriophage ϕ OH2, The 13th International Joint Symposium between Korea and Japan (国際学会), 2016 年 11 月 9 日, Hotel InterCiti (韓国)

(15) 永吉佑子、熊谷健太、藤野泰寛、土居克実: 地熱環境に生息する好熱性繊維状ファージの特性解析、ファージ・環境ウイルス研究会 合同シンポジウム、2016 年 10 月 21 日、海洋研究開発機構

(16) 中村彩乃、永吉佑子、藤野泰寛、土居克実: 高度好熱菌 *Thermus thermophilus* の繊維状ファージ ϕ OH3 の核酸結合タンパク質の特性解析、ファージ・環境ウイルス研究会 合同シンポジウム、2016 年 10 月 21 日、海洋研究開発機構

(17) 白丸優貴、永吉佑子、田代康介、藤野泰寛、土居克実: 繊維状ファージ感染に応答する *Thermus thermophilus* HB8 の CRISPR/Cas 適応免疫系の解析、2016 年度日本農芸化学会西日本支部大会、2016 年 9 月 16 日、長崎大学文教キャンパス

(18) 田中涼、金相完、森一樹、土居克実、久原哲、田代康介: NGS による *Lactobacillus otakiensis* のゲノム構造および D-アミノ酸産生に関わる遺伝子の解析、第 53 回化学関連支部合同九州大会、2016 年 7 月 2 日、北九州国際会議場

(19) 千羽啓太、黒木未知瑠、原田額郎、片倉喜範、土居克実: ファージ由来溶菌タンパク質 Holin のガン細胞へのアポトーシス誘導、第 53 回化学関連支部合同九州大会、2016 年 7 月 2 日、北九州国際会議場

(20) 岡田智紗、藤野泰寛、花島映里、横山拓史、上田晃、土居克実: 好熱性細菌によるシ

リカ沈殿機構の解明、日本農芸化学会 2016 年度大会、2016 年 3 月 29 日、札幌コンベンションセンター

(21) 東大輔、田上諒、藤野泰寛、土居克実：過飽和シリカを誘導剤とするタンパク質発現システムの構築、第 10 回 日本ゲノム微生物学会、2016 年 3 月 4 日、東京工業大学 大岡山キャンパス

(22) 黒木未知瑠、原田額郎、マルトノ ヒンドラ、片倉喜範、土居克実：好熱性ファージ ϕ OH2 由来溶菌酵素 *holin* によるガン細胞のアポトーシス誘導、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 29 日、岡山大学

(23) 和田圭介、小林淳平、古川恵、土居克実、八木寿梓、大城隆、鈴木宏和：

Geobacillus kaustophilus HTA426 で機能するチオストレプトン耐性マーカーの創出、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 28 日、岡山大学

(24) 前田純平、牟田口祐太、清水泰博、大島敏久、土居克実：*Lactobacillus otakiensis* 由来 D-分岐鎖アミノ酸ラセマーゼの性質と生体内での役割、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 27 日、岡山大学

(25) 酒井紀利人、永吉佑子、藤野泰寛、土居克実：超好熱好酸性アーキア *Sulfolobus* に感染する新規ウイルスの単離と性状解析、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 27 日、岡山大学

(26) 土居克実：地層をつくる微生物 ～好熱性細菌の生物鉱化現象を探る～、2014 年度九州支部市民フォーラム(招待講演)、2014 年 11 月 1 日、宮日会館ホール

(27) 児玉恵子、相川浩輝、永吉佑子、藤野泰寛、大島敏久、土居克実：小浜温泉より単離した *Thermus* 属繊維状ファージ ϕ OH16 の特性とゲノム構造解析、2014 年度日本農芸化学会西日本支部大会、2014 年 9 月 19 日、佐賀大学

(28) 田上諒、藤野泰寛、土居克実：シリカを誘導剤とする異種タンパク質発現系の開発、2014 年度日本農芸化学会西日本支部大会、2014 年 9 月 19 日、佐賀大学

(29) 土居克実：極限環境ファージの特性、ゲノム構造から展望する生命進化と産業応用、2014 年度日本農芸化学会西日本支部大会シンポジウム(招待講演)、2014 年 9 月 18 日、HOTEL グランデはがくれ

(30) Martono Hindra、永吉佑子、大島敏久、藤野泰寛、土居克実：小浜温泉より単離した好熱性ファージ ϕ OH2 由来耐熱性溶菌酵素の特解析、第 5 回ファージ研究会、2014 年 9 月 4 日、三重大学生物資源学部

(31) 永吉佑子、熊谷健太、相川浩輝、藤野泰寛、土居克実：小浜温泉より単離した *Thermus* 属繊維状ファージの特性解析、第 5 回ファージ研究会、2014 年 9 月 4 日、三重大学生物資源学部

(32) 永吉佑子、相川浩輝、熊谷健太、藤野泰寛、土居克実：地熱環境に生息する好熱性繊

維状ファージの特性解析、第 51 回化学関連支部合同九州大会、2014 年 6 月 28 日、北九州国際会議場

(33) 田上諒、藤野泰寛、土居克実：シリカ誘導性プロモーターを利用した異種タンパク質発現系の開発、第 51 回化学関連支部合同九州大会、2014 年 6 月 28 日、北九州国際会議場

〔図書〕(計 1 件)

永吉佑子、土居克実「アーキアとウイルス」、日本 Archaea 研究会編『アーキア生物学』、p. 39-42 共立出版、2017.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：メラニン生成制御剤

発明者：清水邦義、土居克実

権利者：九州大学、NARC

種類：公開特許公報(A)

番号：特願 2014-169034

出願年月日：2014 年 8 月 22 日

国内外の別：国際

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土居 克実 (DOI, Katsumi)

九州大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：40253520

(2) 研究分担者

田代 康介 (Tashiro, Kosuke)

九州大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：00192170