

[生物工学会誌 第83巻 第1号 18-25, 2005]

総 合 論 文

生物磁石の利用に関する基礎的研究

(平成16年度 日本生物工学会生物工学賞受賞)

松永 是



Basic Research on Utilization of Biomagnets

TADASHI MATSUNAGA (*Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Naka-cho, Koganei, Tokyo 184-8588*) Seibutsu-kogaku **83**: 18-25, 2005.

Magnetic bacteria synthesize nano-sized bacterial magnetic particles (BMPs), which offer high technological potential as they can be conveniently manipulated with magnetic force. BMPs are ultrafine magnetite crystals (50–100 nm diameter) of regular morphology produced by *Magnetospirillum magneticum* AMB-1. Magnetic structures aligned in chains are thought to function as biological compass needles allowing the bacterium to migrate along redox gradients through the Earth's geomagnetic field lines. Despite the discovery of this unique group of microorganisms several decades ago, the mechanisms of magnetic crystal biomineralization have yet to be fully elucidated. The present article describes the current knowledge of the genes and proteins involved in magnetite formation in magnetic bacteria and the biotechnological applications of BMPs in interdisciplinary fields of nanobiotechnology, medicine and environmental management.

[**Key words**: magnetic bacteria, bacterial magnetic particles (BMPs), biomineralization, magnetite formation]

はじめに

近年、バイオプロセスによって形成される無機材料“バイオミネラル”が注目されている。バイオミネラルは形態、性状をタンパク質、脂質、多糖類などの生体分子によって制御された無機物であり、人工結晶とは異なるすぐれた特性をもつ新たな材料となりうる。したがって、バイオミネラルの核形成、結晶成長などのプロセスを分子生物学的に解明することは有用であり、新たなバイオミネラルの創製を可能とする。

バイオミネラルには、真珠や貝殻などの炭酸カルシウム、単細胞藻類である珪藻の骨格や海綿動物の骨針のケイ酸塩、ヒザラ貝の歯や一部の細菌に見られる酸化鉄などさまざまなものがある。我々は、磁性細菌が細胞内で合成するマグネタイトに着目し、分子生物学的解析により、形成機構の解明およびその工学的応用を世界に先駆

けて成し遂げてきた。本稿では、分離・純粋培養に成功した磁性細菌 *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 株が合成する磁気微粒子の特徴、および形成機構を述べるとともにその工学的な利用について紹介する。

1. 磁性細菌が合成する磁気微粒子

火星の隕石に含まれる磁気微粒子が生物由来であるという仮説が提唱されたり、¹⁾ 2億年前の地層から生物由来と考えられる磁気微粒子が発見されるなど、最近生物由来の磁気微粒子について興味深い報告が相次いでいる。磁性細菌は1975年にまったくの偶然からその存在が確認された微生物である。²⁾ この微生物は、菌体内にナノサイズの磁気微粒子を合成し、その存在によって、地磁気に応答する性質を獲得している。これまで磁性細菌は、海洋、湖沼、河川、河口、砂浜、土壌などのさまざまな水圏の泥質に生息していることが確認されており、球形、

著者紹介 東京農工大学大学院生命工学専攻（教授） 〒184-8588 東京都小金井市中町 2-24-16

TEL. 042-388-7020 FAX. 042-385-7713 E-mail: tmatsuna@cc.tuat.ac.jp

1979年 東京工業大学大学院博士課程修了、工学博士 専門分野：生物工学、遺伝子工学

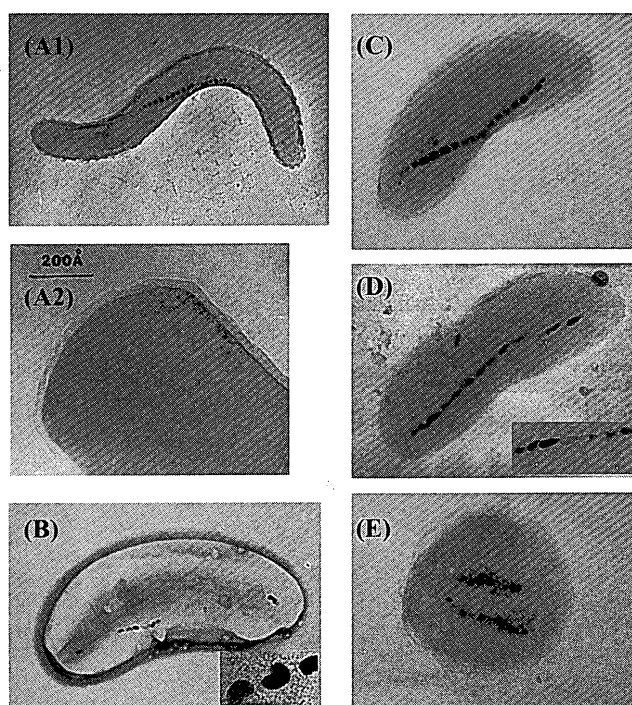


図1. 磁性細菌および磁気微粒子の透過型電子顕微鏡写真。(A1) 螺旋状磁性細菌 *Magnetospirillum magneticum*, (A2) *M. magneticum* から分離された磁気微粒子, (B) 硫酸還元磁性細菌 *Desulfovibrio magneticus*, (C) 湾曲状磁性細菌 (未培養), (D) 短桿状磁性細菌 (未培養), (E) 球状磁性細菌 (未培養)。

桿状、湾曲状、螺旋状、不定形などの磁性細菌が観察され、形態的多様性が明らかになっている(図1)。磁性細菌は、常温、pH6~7に生育至適条件を持ち、生理的な条件で磁気微粒子を合成している。メスbauer分光法、電子線回折を用いた解析から磁性粒子が純粋なマグネタイト結晶であることが確認されており、単磁区構造を有していることが示唆されている。^{3,4)} また、粒子の一つ一つが脂質二重膜で覆われている。図1(A2)は、*Magnetospirillum magneticum* AMB-1株で合成されたマグネタイト(Fe_3O_4)であり、厚さ4 nmの有機膜で覆われているのがわかる。

さらに、磁性細菌の中には、菌体内に磁性硫化鉄(Fe_3S_4)やpyrite(FeS_2)粒子を合成するものも確認されており、磁気微粒子の性状の多様性が確認されている。形状は、cubo-octahedron構造の他、六角柱、まがたま状、弾丸状、八面体形などの結晶形があり、結晶形状は微生物株ごとに保存され、種間で異なる結晶形態を有するマグネタイト微粒子が保持されている。このような性状、形状における多様性は、磁性細菌において種特異的なマグネタイト結晶の合成システムの存在と生物学因子による結晶の形態制御機構の存在を示しており、磁気微

粒子表面膜や膜タンパク質などの有機分子が形状や大きさの制御に深く関わっていると考えられる。

2. 磁気微粒子形成機構の解析

我々はすでに磁性細菌 AMB-1 株の全ゲノム解析を終え、磁気微粒子形成機構解明のため、バイオインフォマティクスの技術やDNAチップ、LC-MS/MSなどを取り入れたトランスクリプトーム解析・プロテオーム解析に取り組んでいる。このような研究を推し進めることにより、磁性細菌による磁気微粒子形成機構の全貌が明らかになってきた。⁵⁾

2.1. 全ゲノム解析に基づく磁気微粒子形成機構解明へのアプローチ

磁性細菌AMB-1株に対し、ショットガンシーケンスを行い、現在までに4,967,148塩基対の配列を決定している。4559個のORF(open reading frame)の予測とそれらの機能推定を行った結果、公共データベースに登録されていない未知の遺伝子が2269個、また登録されているものの機能が未知なものが168個あり、新規の遺伝子が約半数を占めていることが明らかとなった。マグネタイト合成といった特殊な機構を保持した微生物であるため、既知微生物には見られない特有な遺伝子を持っている可能性は十分考えられる。また、機能推定が可能であった遺伝子のなかに物質輸送に関連した遺伝子群が数多くみられ、全ORFの11%を占めていることが分かった。他の微生物ゲノムと比較しても、この結果は興味深い知見である。その中で、磁気微粒子形成機構に関連する鉄輸送システムの遺伝子群も見いだされている。すでにAMB-1株においてシデロフォアが見つかっており、⁶⁾三価鉄とキレートしたシデロフォアやクエン酸を受容可能なレセプター、および二価鉄の能動輸送体など5つの鉄輸送システムがゲノム情報から明らかとなった。さらにDNAチップを利用したAMB-1株のトランスクリプトーム解析により、鉄濃度変化に応答する遺伝子が見いだされ、その発現調節機構は他の微生物とは異なったユニークな応答を示していた。磁気微粒子を合成するためには多量の鉄取り込みが必要であり、独自の機構を獲得してきたと考えられる。

2.2. トランスポゾンミュータント作製に基づく磁気微粒子形成機構解明へのアプローチ

単菌分離されたAMB-1株は遺伝子導入系が確立されている株であり、トランスポゾンTn5挿入による変異株の作製が可能である。この変異株の中で、磁気微粒子を生成しない株のスクリーニングを網羅的に行った。5762株に及ぶ全トランスポゾンミュータント中、磁気微粒子合成能欠損株は69

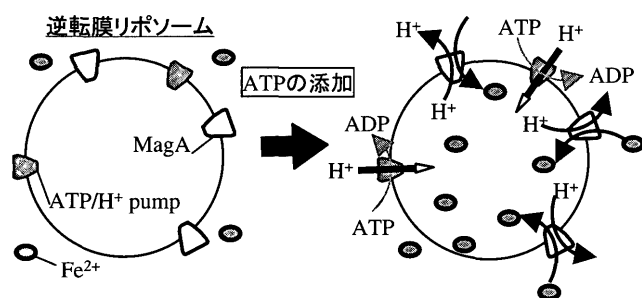


図2. MagA 遺伝子を導入した大腸菌形質転換体を用いた逆転膜リポソーム

株であり、欠損した遺伝子群およびその周辺領域のシーケンスを行い、トランスポゾンにより潰された遺伝子がどのように粒子形成に関与しているか、ゲノム情報と照らし合わせた解析を進めてきた。このような手法により最初に単離された MagA 遺伝子は、カチオン輸送のタンパク質をコードしていることが推定された。⁷⁾ MagA 遺伝子を導入した大腸菌形質転換体を用いて大腸菌内膜の逆転膜を作成し、MagA タンパク質を含むリポソームを調製した(図2)。この逆転膜リポソームを用いて鉄の輸送について調べたところ、系内にATPを添加した場合においてのみリポソーム内への鉄イオンの取り込みが確認された。さらに、ATPを添加せずに系内をアルカリ性にして人工的に pH 勾配を作成した場合においても鉄イオンの取り込みが確認されたことからプロトン/ATPase によるプロトン勾配が鉄の輸送を引き起こすと考えられた。鉄が内部に輸送されると同時に外部にプロトンが排出されることで、小胞内はアルカリ化し、マグネタイト前駆体のアモルファスが生じると予想される。この結果は、磁性細菌におけるマグネタイト形成が、工業的に用いられる共沈法（二価と三価の鉄イオンの共存下で溶液をアルカリ化する）と同様の反応系で行われていることを示唆している。また、磁気微粒子合成能欠損ミュータント NMA21 株では、aldehyde ferredoxin oxidoreductase (AOR) 遺伝子が欠損しており、このタンパクが微好気条件下でのパイオマグネタイト合成における三価鉄の還元に寄与していることが示唆された。⁸⁾ さらに NMA61 株ではペリプラズミック結合性タンパク質キナーゼを欠損しており、鉄輸送における細胞内鉄取り込み阻害が確認されている。⁹⁾

2.3. 磁気微粒子膜タンパク質の網羅的解析による磁気微粒子形成機構説明へのアプローチ 磁気微粒子が脂質二重膜に覆われた粒子であることは上記で述べてきた。この二重膜内にはさまざまなタンパク質が存在し、

これらのタンパク質が磁気微粒子形成機構に寄与していることが容易に想像できる。そこで磁性細菌の菌体を細胞破碎後、細胞質画分、膜画分、磁気微粒子膜画分に分離し、SDS-PAGE、二次元電気泳動を用いて磁気微粒子膜に存在するタンパク質を分離した。これらのタンパク質に対し、N 末端アミノ酸シーケンサーおよび LC-MS/MS によるアミノ酸配列を決定し、全ゲノム配列により磁気微粒子膜上に存在しているタンパク質を網羅的に同定した。これにより SDS-PAGE および二次元電気泳動から 70 個以上のタンパク質が同定されている。その中で、磁気微粒子表面に局在する膜タンパク質の解析から、細胞膜陥入に関与するタンパク質がいくつか同定されるに至った。磁気微粒子を覆う膜は、磁性細菌の内膜が陥没することによって形成されることが考えられている。¹⁰⁾ これまで真核生物における膜陥没による細胞内小胞形成に関する研究は多くなされているが、磁性細菌などの原核微生物での膜小胞形成についてはほとんど解析されていない。ナノ磁気微粒子膜に局在するタンパク質の中で発現量の多いタンパク質、Mms16、MpsA の解析を行ったところ、それぞれ小胞特異的 GTPase、アシル基転移酵素であることが示唆された。小胞特異的 GTPase である Mms16 による細胞膜陥入の誘導、¹¹⁾ acetyl-CoA carboxylase (acyl-CoA transferase) と高い相同性を示す MpsA によるアシル基転移が小胞形成に関与すると考えられる。¹²⁾

また、同定された 70 個のタンパク質について、細胞内での局在性予測ソフトウェアを用いて解析したところ、それらの多くが内膜および水溶性画分と予測され、磁気微粒子膜が内膜に由来していることが示唆された。本知見は磁気微粒子形成機構が内膜陥入に起因していることを強く支持していると考えられる。

さらに、マグネタイト表面に強く結合しているタンパク質の単離を行うために、尿素などで磁気微粒子膜タンパク質を除去した後、SDS によりタンパク質を可溶化した。その結果、ユニークな 4 つの低分子タンパク質が見いだされた。これらのタンパク質を二次元電気泳動により分離し、N 末端シーケンスを行い、ゲノムデータにマッピングしたところ、4 つの遺伝子はゲノム上にいて約 2.5 kbp の短い領域に局在することがわかった。またこれらのタンパク質の特徴として N 末端に疎水性アミノ酸を、C 末端に酸性アミノ酸を多く含むタンパク質であることがわかった。C 末端部位には酸性アミノ酸以外にも Ser, Tyr, His など金属イオンと相互作用するアミノ酸が存在することから、この部位において鉄イオンを

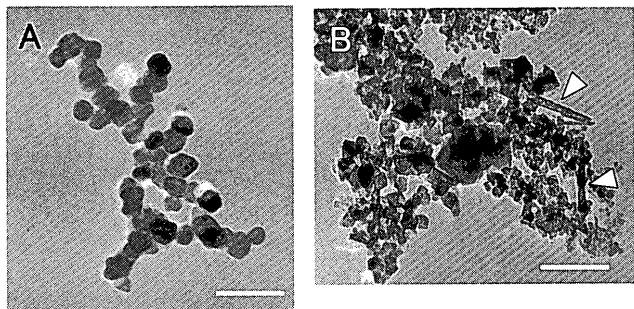


図3. Mms6存在下 (A), 非存在下 (B) において合成される磁気微粒子の透過型電子顕微鏡写真. Bar=100 nm.

吸着する可能性が考えられた. その中の1つ, Mms6の機能解析を目的とし, 大腸菌におけるMms6の大量調製を行った. 大腸菌内で大量生産したMms6を共沈法による人工マグネタイト合成時に加えたところ, 加えない場合と比較して結晶サイズ, 形状に明らかな違いが観察された. Mms6の添加によって生じたマグネタイトは, 粒径が60 nm前後に揃い, 形状は磁性細菌AMB-1株で見られる形に近い均一な形状粒子であった. それに対し, 添加しなかった場合に生じた磁気微粒子のサイズは不均一であり, 形状も針状, 球状などさまざまであった(図3). Mms6には二価鉄イオンおよび三価鉄イオンと結合する能力があり, Mms6が直接イオンあるいはマグネタイトの結晶と結合し, 結晶成長を制御すると考えられる.¹³⁾ 磁性細菌粒子のサイズと磁区を厳密にコントロールしている生物学的因子は粒子に強く結合しているタンパク質Mms6であると考えられた.

2.4. 磁気微粒子形成機構の概要 このように網羅的なゲノム・プロテオーム解析から, 個々のタンパク質の機能解析を行うことにより, 磁気微粒子形成機構の概要が明らかとなった(図4). その機構として, 1) 粒子表面

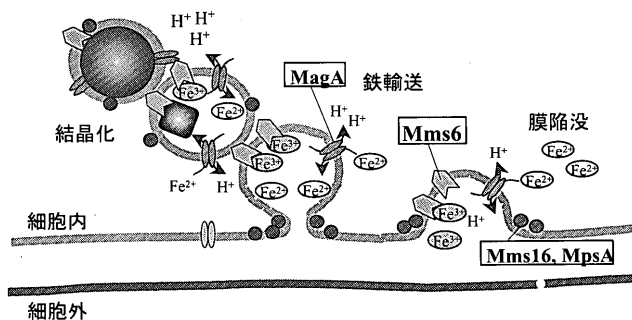


図4. 磁性細菌 *M. magneticum* AMB-1 における磁気微粒子の形成機構. 膜陥没して小胞が形成され, Mms6を鋳型としてマグネタイトの結晶が形成される. 原料となる鉄イオンはMagAにより輸送される.

を覆う膜小胞作製, 2) 小胞内への鉄イオンの蓄積, 3) 鉄イオンの結晶化, 4) 鉄イオンの酸化還元調節の4つのステップで行われることが推察されている. 小胞特異的GTPaseであるMms16が, 真核細胞の輸送小胞を形成するメカニズムと類似した機能で細胞膜の陥入をプライミングし,¹¹⁾ acetyl-CoA carboxylase (acyl-CoA transferase) と高い相同性を示すMpsAから転移されるアシル基が小胞形成に関与する.¹²⁾ 陥入によって生じた小胞膜上にはプロトン/鉄アンチポーターであるMagAが発現しており, 小胞内に鉄イオンを蓄積する.⁷⁾ このとき鉄が内部に輸送されると同時に外部にプロトンが排出されることで, 小胞内はアルカリ化し, マグネタイト前駆体のアモルファスが生じる. 結晶と小胞膜の境目から分離されたMms6は小胞内側で鉄イオンと結合し, マグネタイトの結晶核を形成する. また, Mms6は結晶成長制御にも関与し, 粒子サイズを一定にそろえる.¹³⁾ さらに, 細胞内各所の酸化還元酵素により鉄の酸化還元反応が起こり, マグネタイトの結晶が作られると考えられる.⁸⁾ 磁性細菌におけるマグネタイト形成は, 工業的に用いられる共沈法と同様の反応系で行われていることが考えられる. しかしながら磁性細菌の菌体内では, リボソームというナノ反応場を作りだし, 鉄イオンの蓄積や酸化還元, 鉄結合タンパク質の制御を通してきわめて高精度に反応を行うことによって形状の揃った粒子を合成しているものと考えられる. このような粒子形成機構を遺伝子レベル, タンパク質レベルで制御することで, ナノ反応場を人工的に制御することができ, 新たな無機材料の創製が可能になる. 磁性細菌の粒子形成機構の解明が機能性磁気微粒子の創製へとつながるため, 工学的利用を視野に入れた基礎研究を推し進めている.

3. 磁気微粒子の工学的利用

外部磁場により容易に運動制御可能な磁気微粒子は, DNA, ペプチド, タンパク質さらには細胞の固定化担体として, 診断・医療・環境分野で広く利用されている. 磁気微粒子上の生体分子固定化担体としての利用は, 1970年代の固定化酵素を用いたバイオリクターに関する研究, アガロースポリアクリルアミド修飾磁気微粒子の免疫測定への応用研究などに始まる. 以後現在に至るまで, 表面の各種修飾や粒子形状, 材料の研究開発が行われ, 遠心分離やフィルター分離, クロマトグラフィー分離に代わるセパレーション技術として広く用いられている.

現在, 磁気微粒子の製造法は, 水相で調製できる共沈

法が一般的である。この方法では、強酸条件、界面活性剤や有機溶媒中での反応を必要とし、粒径・形状の均一性、高保磁力、単磁区構造を保つために反応工程の精密な制御を必要とする。また、バイオ分野で用いられる磁気微粒子には、溶液中での粒子分散状態を保つために高分子ポリマーなどを用いた修飾が施されている。これは、マグネタイトやマグヘマイト (Fe_2O_3) などのフェリ磁性体の溶液中における自発的な凝集・沈降を防ぐためである。また、磁気微粒子表面への抗体・酵素・受容体などのタンパク質導入においては、ポリマー磁気微粒子上にアミノ基やカルボキシル基などの官能基を利用した化学架橋法が主流である。

これらの人工磁気微粒子に対し、磁性細菌が生合成する磁気微粒子は、形状・大きさともに均一なナノサイズのマグネタイトである。また、脂質二重膜に覆われていることより、溶液中での分散性にすぐれ、DNA 検出や免疫センサなどへの応用が可能となっている。また、磁気微粒子表面膜のリン脂質の主成分は、ホスファチジルエタノールアミン (PE) であり、このアミノ基を反応基として用い、架橋剤を用いた DNA・抗体・酵素の固定化が可能である。これまでに磁気微粒子をキャリアとして用い、IgG,¹⁴⁾ 大腸菌,¹⁵⁾ 糖尿病マーカーの検出,¹⁶⁾ 一塩基多型 (SNP) 検出¹⁷⁾ が可能であることが確認されている。さらに粒子表面へのタンパク質の新たな導入方法として、磁気微粒子上の膜タンパク質を足場 (アンカー) として利用し、遺伝子融合技術による酵素・受容体のアセンブリ技術が開発されている。^{16,18,19)} アンカー分子を用いることで粒子上にさまざまな機能性タンパク質を効率よく、かつ方向性を制御した状態で発現させることができる (図5)。すでに磁性細菌の大量培養法が確立されているため、機能性分子をアセンブルした磁気微粒子の大量生産も可能である。²⁰⁾ このように、磁気微粒子

上のアミノ基を利用した導入法や遺伝子工学的手法による生体分子のアセンブルは磁性細菌が合成する磁気微粒子を用いることで可能となる。我々は磁気微粒子上に導入する生体分子の性質や検出用途に合わせて、その導入法を検討している。以下に我々が近年行ってきた磁気微粒子の工学的利用の一部を紹介する。

3.1. DNA プローブ固定化磁気微粒子によるハイスループット SNP 検出 磁気微粒子を DNA の固定化担体として用いた自動一塩基多型 (SNPs) 検出システムの構築が行われている (図6)。本システムには、SNPs のハイスループット検出を実現するために、96本の吸引・吐出ノズルが設置されており、一度に96サンプルを同時解析することが可能である。また、反応槽であるマイクロタイタープレートの下部に回転式の磁石を設置し、底面磁気回収により DNA 固定化磁気微粒子の回収を行う方式を採用している。²¹⁾ SNP の測定原理として、蛍光共鳴エネルギー移動に基づく一塩基認識,²²⁾ 二本鎖 DNA の熱遊離曲線を基にしたハイブリダイゼーション法が開発されている。²³⁾ これまでにアルコール感受性に関与するアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子、骨粗鬆症に関連すると考えられる TGF- β 1 遺伝子の多型に対する網羅的解析を行い、実サンプル 1000 検体以上において DNA シークエンスと 100% 一致する SNPs 検出結果が得られている (図7)。さらに血液からの DNA 抽出行程においても、磁気微粒子を利用した全自動 DNA 抽出装置の開発が行われている。²⁴⁾ 現在は血液サンプルを用意するだけで、DNA 抽出から SNPs 検出までの一連の操作を組み込んだ装置の開発に取り組んでいる。

3.2. 遺伝子融合技術を利用した磁気微粒子上への受容体アセンブル 医薬品開発の中で大きなシェアを占める G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は、細胞内シ

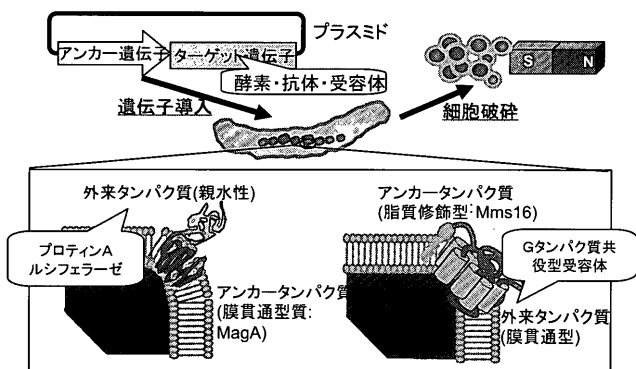


図5. 磁気微粒子上への外来タンパク質のアセンブル

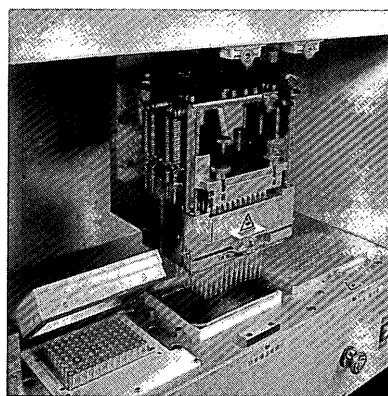


図6. 磁気分離機能搭載の96サンプル対応型の自動SNPs解析装置

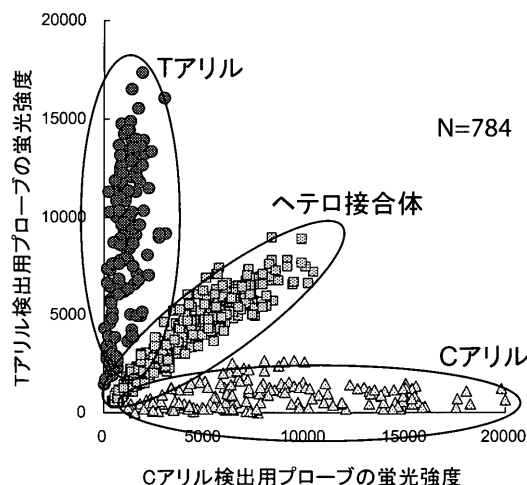


図7. DNA固定化磁気微粒子を用いた784検体からのTGF- β 1の自動SNP判別結果. Tアリル, 骨粗鬆症になる可能性が高い. Cアリル, 骨粗鬆症になる可能性が引く.

グナル伝達の制御, 細胞の内外環境との相互作用の調節など, 生命現象のキーとなる役割を担っている. このため, 疾病との因果関係も強く, GPCRをターゲットとした医薬品開発が盛んに行われている. しかしながら, GPCRは7回膜貫通型のタンパク質であるため, 通常の精製プロトコルでは, 界面活性剤による可溶化, およびリポソーム上への再構築と, 煩雑な操作が必要である. ここで, GPCRを磁性細菌が合成する磁気微粒子膜上に正しいフォールディングで発現させることができれば, 可溶化することなく粒子のまま解析に用いることができる. そこで我々は, 自由度の高い脂質修飾型のタンパク質であるMms16をアンカー分子として用い, GPCRのフォールディングを助長する設計を行った. GPCRのモデルとしてD1ドーパミンレセプター(D1R)を用い, D1R遺伝子とmms16遺伝子との融合遺伝子を磁性細菌に導入した. 得られた形質転換体を培養・集菌・細胞破碎後, 磁気分離操作によりD1Rをアセンブルした磁気微粒子を得た. この粒子上のD1Rの解離定数は9.75 nMと算出され, ナノオーダーの結合能を保持していることが明らかとなった.¹⁹⁾ さらにリガンドスクリーニング技術の開発を目的とし, 蛍光標識アンタゴニスト(SCH23390)を用いた競合結合実験を行った. 蛍光標識SCH23390存在下で非標識のドーパミンと競合反応を行ったところ, ドーパミンの濃度の上昇に伴い蛍光の減少が観察され, ドーパミンの定量が可能であった(図8). 上記結果は, 本手法により得られた磁気微粒子をGPCRのリガンドスクリーニングに使えることを示すものであ

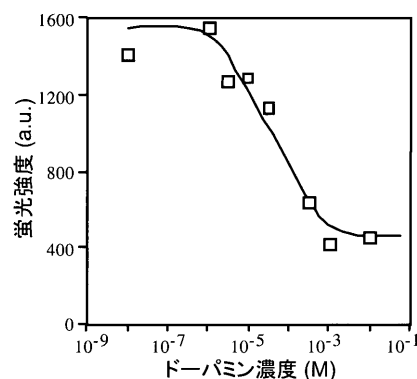


図8. 蛍光標識リガンドを用いたドーパミンとの競合結合試験

る. 磁性細菌から得られる磁気微粒子上へのタンパク質アセンブル技術は, 簡便なGPCRの調整を可能とし, 膜タンパク質の煩雑な調整法を解決できる有効な手段を提供できると考えられる.

3.3. 抗体固定化磁気微粒子を用いた細胞分離 細胞の磁気分離技術は, 再生医療や細胞工学の分野で基盤技術として利用されている. 現在市販されている磁気微粒子はナノサイズの分散性にすぐれた粒子であるが, 磁気分離時に特殊な磁気カラムを必要とし, 煩雑な操作を必要としている. そこで磁気特性および分散性にすぐれ, かつ磁気分離が容易である磁性細菌由来の磁気微粒子の利用が試みられた. プロテインAを遺伝子工学的手法によりアセンブルした磁気微粒子上に抗体を反応させた粒子複合体を作製し, ヒト末梢血単核球からのT細胞, B細胞, 単球, 幹細胞の選択的分離を検討した.

ヒト末梢血から比重遠心法により分離した単核球に対し, 各種CD抗原に対するマウスモノクローナルIgG抗体(CD8, CD19, CD20, CD14)を一次抗体とし, プロテインA-磁気微粒子上に結合させた抗マウスIgG抗体を二次抗体として用い, 末梢血から各種単核球の磁気分離を行った. さらに, FITC標識抗マウスIgG抗体でラベルし, FACS解析を行った結果, 磁気分離後のCD8, CD19, CD20, CD14陽性細胞の純度は, それぞれ94.11, 98.48, 98.70, 90.80%であり, 高精度に分離できることが分かった(図9). また, 同プロトコルで分離された造血幹細胞において, 磁気分離操作によって分化誘導に影響がないことが確認されている.²⁵⁾ 上記結果により, 磁性細菌由来磁気微粒子の細胞磁気分離担体としての有用性が示され, 再生医療分野における利用が可能であると考えられる.

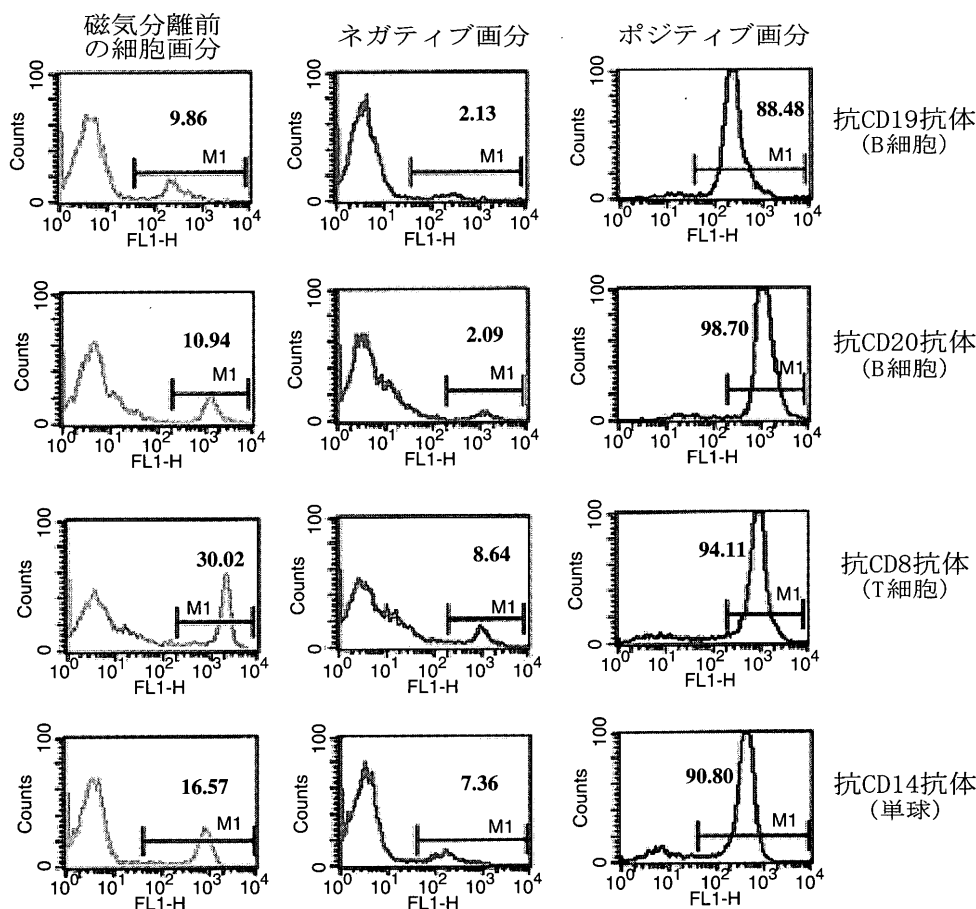


図9. 抗体固定化磁気微粒子を用いた末梢血からの各種単核球の分離。磁気分離前の細胞画分/磁気分離後の上清（ネガティブ画分）/磁気分離された細胞（ポジティブ画分）をFACSScanにより蛍光解析。

おわりに

生物の合成プロセスを利用した新規バイオマテリアル創製に関する研究は、半導体材料であるシリコンや磁気媒体材料になりうる酸化鉄において急速に発展してきている。我々はこれまでに磁性細菌が合成するバイオミネラル、磁気微粒子形成機構の解明に取り組み、これらの知見を転用して機能性の高い磁気微粒子の創製を行ってきた。このような有機薄膜に被覆されたマグネタイトの単結晶を人工合成する技術は確立されておらず、磁性細菌由来の磁気微粒子の実用化レベルでの利用の可能性は高い。また、これらの粒子は磁気分離機能を搭載した分注装置と組み合わせることによってさまざまな物質の自動測定が実現し、ハイスループット測定装置の開発も可能となった。分子レベルでの網羅的解析によって、バイオミネラルができるまでの物理化学的因子と生物学的因子を統括的に理解し、磁性細菌が合成する磁気微粒子のさらなる応用研究を推し進めていくことを考えている。

文 献

- 1) Friedmann, E. I., Wierchos, J., Ascaso, C., and Winkhofer, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**, 2176–2181 (2001).
- 2) Blakemore, R. P.: *Science*, **190**, 377–379 (1975).
- 3) Matsunaga, T. and Kamiya, S.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **26**, 328–332 (1987).
- 4) Sakaguchi, T., Burgess, J. G., and Matsunaga, T.: *Nature (London)*, **365**, 47–49 (1993).
- 5) Matsunaga, T. and Sakaguchi, T.: *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 1–13 (2000).
- 6) Calugay, R. J., Miyashita, H., Okamura, Y., and Matsunaga, T.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **218**, 371–375 (2003).
- 7) Nakamura, C., Burgess, J. G., Sode, K., and Matsunaga, T.: *J. Biol. Chem.*, **270**, 28392–28396 (1995).
- 8) Wahyudi, A. T., Takeyama, H., Okamura, Y., Fukuda, Y., and Matsunaga, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **303**, 223–229 (2003).
- 9) Calugay, R. J., Okamura, Y., Wahyudi, A. T., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **323**, 852–857 (2004).

- 10) Gorby, Y. A., Beveridge, T. J., and Blakemore, R. P.: *J. Bacteriol.*, **170**, 834–841 (1988).
- 11) Okamura, Y., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *J. Biol. Chem.*, **276**, 48183–48188 (2001).
- 12) Matsunaga, T., Tsujimura, N., Okamura, Y., Takeyama, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **268**, 932–937 (2000).
- 13) Arakaki, A., Webb, J., and Matsunaga, T.: *J. Biol. Chem.*, **278**, 8745–8750 (2003).
- 14) Matsunaga, T., Kawasaki, M., Yu, X., Tsujimura, N., and Nakamura, N.: *Anal. Chem.*, **68**, 3551–3554 (1996).
- 15) Nakamura, N., Burgess, J. G., Yagiuda, K., Kudo, S., Sakaguchi, T., and Matsunaga, T.: *Anal. Chem.*, **65**, 2036–2039 (1993).
- 16) Tanaka, T. and Matsunaga, T.: *Anal. Chem.*, **72**, 3518–3522 (2000).
- 17) Yoshino, T., Tanaka, T., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *Biosens. Bioelectron.*, **18**, 661–666 (2003).
- 18) Matsunaga, T., Togo, H., Kikuchi, T., and Tanaka, T.: *Biotechnol. Bioeng.*, **70**, 704–709 (2000).
- 19) Yoshino, T., Takahashi, M., Takeyama, H., Okamura, Y., Kato, F., and Matsunaga, T.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 2880–2885 (2004).
- 20) Yang, C. D., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *J. Biosci. Bioeng.*, **91**, 213–216 (2001).
- 21) Tanaka, T., Maruyama, K., Yoda, K., Nemoto, E., Udagawa, Y., Nakayama, H., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *Biosens. Bioelectron.*, **19**, 325–330 (2003).
- 22) Nakayama, H., Arakaki, A., Maruyama, K., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *Biotechnol. Bioeng.*, **84**, 96–102 (2003).
- 23) Maruyama, K., Takeyama, H., Nemoto, E., Tanaka, T., Yoda, K., and Matsunaga, T.: *Biotechnol. Bioeng.*, **87**, 687–694 (2004).
- 24) Yoza, B. A., Arakaki, A., Maruyama, K., Takeyama, H., and Matsunaga, T.: *J. Biosci. Bioeng.*, **95**, 21–26 (2003).
- 25) Kuhara, M., Takeyama, H., Tanaka, T., and Matsunaga, T.: *Anal. Chem.*, **76**, 6207–6213 (2004).