

京都大学大学院工学研究科 教授

今中 忠行

「深度地下極限環境微生物の探索と利用」

1. 研究実施の概要

研究目的

本研究では未開拓の深度地下極限環境から新規な微生物を分離し、それらが有するであろう特殊酵素、代謝系や環境適応戦略を解析していくことを目標に設定している。これにより地下微生物生態系の解明、生命進化過程の理解に加えて、遺伝子資源の確保、工業的利用や環境改善へ貢献できることを期待している。

研究成果概要

1) 新規極限環境微生物の分離と同定（京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻）

・極低温でも生育する SN16A 株、KB700A 株

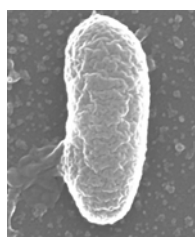
我々は国内の地下土壌サンプルから低温でも生育できる新規微生物を複数分離した。比較的浅い地下環境から分離した SN16A 株は-5℃から 37℃の温度範囲で生育し、新属新種の微生物である可能性が示唆された。また、KB700A 株は地下 700m の水サンプルから分離され、-10℃という生物にとって極限的な低温でも増殖することを見いだした。KB700A 株からはさらに低温領域で高活性を示す lipase が同定・解析された。

・海底油田より分離した M4 株、MAL1 株

マレーシア沖海底油田（海拔-5000m）より地下微生物 M4 株、MAL1 株を分離した。嫌気条件下では M4 株は硝酸イオンを最終電子受容体とし、窒素を発生する脱窒菌であることが判った。

・石油分解合成菌 *Oleomonas sagaranensis* HD-1 株

我々は静岡県相良油田より様々な直鎖状炭化水素や芳香族化合物を効率よく分解する細菌 HD-1 株を分離した。また、水素をエネルギー源、二酸化炭素を炭素源として培養した場合に HD-1 株の菌体内に炭化水素の蓄積を認めた。このような特性を有する微生物はい



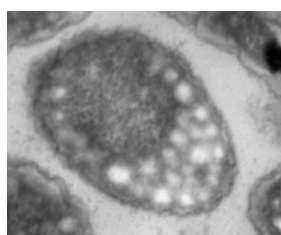
KB700A 株



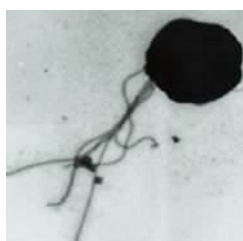
SN16A 株



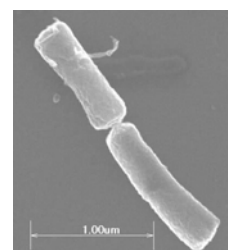
HD-1 株



MAL1 株



KOD1 株



VA1 株

ままでに報告例はなく、HD-1 株内に様々な新規代謝系が存在すると考えられる。遺伝子解析により HD-1 株は α -*Proteobacteria* に属する親族新種の微生物であることが判明し、*Oleomonas sagaranensis* HD-1 株と命名された。

・超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株

我々は鹿児島県小宝島の硫気孔より超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株を分離した。本菌は 65℃～100℃という高温で生育する絶対嫌気性菌であり、硫黄呼吸や発酵を行って、アミノ酸や多糖類を分解・資化する。また、16S rRNA の比較により、KOD1 株は進化系統樹の根の近いところに位置する極めて単純な生命体であることが示唆された。

・好気性超好熱始原菌 *Pyrobaculum calidifontis* VA1 株

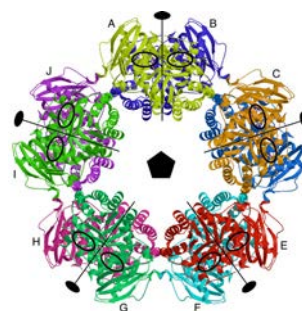
KOD1 株を含め、超好熱菌のほとんどは絶対嫌気性菌であるが、我々はフィリピン温泉より好気条件下で生育する超好熱菌 VA1 株を分離した。VA1 株は約 1 μ m の桿菌であり、大気条件下で温度 90～95℃、pH7.0 で最も良好な生育を示した。また嫌気条件下では、超好熱菌には珍しく硫黄呼吸ではなく硝酸呼吸を行っていることが判った。系統解析の結果、VA1 株は *Pyrobaculum* 属に近縁でありながら、既存の菌種とは異なることが判明し、本菌を *Pyrobaculum calidifontis* VA1 株と命名した。VA1 株より、超耐熱性を示す catalase および carboxylesterase などの有用酵素が同定・解析された。

2) 耐熱性酵素の成熟化には高温環境が必要

我々は KOD1 株の glutamate dehydrogenase (GDH) の研究を通じて、超好熱菌由来タンパク質に普遍的な特性を発見した。すなわち、常温菌由来のタンパク質は一般に熱変性するのに対し、超好熱菌由来の組換えタンパク質は熱により成熟していくことを明らかにした。KOD1 株内の高温環境で合成された GDH は 6 量体構造を有し、高い比活性を示す。一方、GDH 遺伝子は大腸菌を宿主として発現させた場合では、天然型の GDH と比べて酵素活性が低く、構造の異なる単量体タンパク質が得られた。そこで 70℃、20min の熱処理を施すと組換え型 GDH は比活性、立体構造ともに天然型の GDH に近づくことが明らかとなった。また、一度熱処理を行うことにより、本酵素は低温域でも天然型 GDH と類似した挙動を示した。このような特徴は GDH のみならず、我々が解析した超好熱菌由来酵素の全てについて認められた。以上のことから、耐熱性タンパク質の成熟化には熱が重要であり、それは熱による酵素タンパク質の不可逆な構造変換に起因することが判明した。

3) 新しい構造や機能特性を有する酵素の発見

Rubisco は全ての植物・藻類・藍藻に存在し、二酸化炭素を有機物に固定する重要な役割を担っている。Rubisco は地球上で最も多量に存在する酵素であり、本酵素の改良は地球温暖化や食糧問題の解決に大きく貢献すると期待されている。



Tk-Rubisco の立体構造

いままで原始生命体に近い始原菌は Rubisco を有しないと考えられてきたが、我々は KOD1 株内に高い炭酸固定能を有する Rubisco が存在することを発見した。本酵素 (*Tk-Rubisco*) は従来の Rubisco と比較して 35 倍も高い活性を有し、二酸化炭素に対する特異性も極めて高いことが判明した。*Tk-Rubisco* は構造的にも新規であり、前例のない五角形型 10 量体構造をとっていた (右図)。また、詳細な生化学的解析の結果、本五角形構造は *Tk-Rubisco* の高い耐熱性に必須であることも判明した。

4) 新しい chitin 代謝系の発見

Cellulose や chitin の生分解については主に細菌やカビで研究されてきたが、これらのβ-多糖は一般にその結晶性構造のために可溶性や非結晶性の基質に比べ分解されにくい。我々は KOD1 株より、chitin 分解に関与する chitinase (*Tk-ChiA*)、deactylase、exo-β-D-glucosaminidase (*Tk-Glm*)、glucosamine-6-phosphate deaminase (*Tk-Gpd*) をそれぞれ同定・解析した。各酵素の基質特異性などを検討した結果、KOD1 株においては *Tk-ChiA* が chitin を GlcNAc₂ にまで分解した後、deactylase の反応により生じる GlcN₂ を *Tk-Glm* が単糖に分解し、さらに *Tk-Gpd* の作用により fructose 6-phosphate にまで変換されるという経路が示唆された。これまでにこのような chitin 分解経路は知られておらず、超好熱始原菌に特有の新規な代謝経路と考えられる。

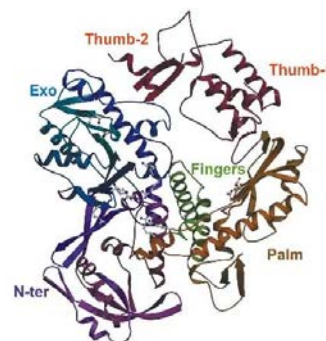
5) 構造解析に基いた超好熱菌由来タンパク質の耐熱性機構の解明

超好熱菌由来タンパク質が示す高度な耐熱性は、タンパク質科学の基礎分野のみならず、酵素を利用する様々な応用分野から注目を集めている。我々は多数の KOD1 株由来酵素の立体構造を明らかにしており、それらの耐熱性機構を解明することができた。代表的な例として O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (*Tk-MGMT*) が挙げられる。*Tk-MGMT* とその大腸菌由来酵素 (*AdaC*) の立体構造を比較すると、*Tk-MGMT* にはα-helix を安定化する helix 内イオン結合が多数存在することが判明した。また、タンパク質全体の構造を安定化する helix 間イオン結合も多く存在していた。大腸菌由来 *AdaC* にはこのようなイオン結合は少なく、超好熱菌由来酵素は多数のイオン結合やイオン結合ネットワークにより高度な耐熱性を発揮していることが判った。これは上述の GDH においても同様であり、生化学的にも証明することができた。すなわち、GDH 内に存在するイオン結合ネットワークを壊すような部位特異的変異を導入した場合には、変異酵素の熱安定性が大きく低下した。逆にイオン結合を増加させた変異酵素の耐熱性は上昇した。

6) 有用酵素の利用

我々は KOD1 株の DNA polymerase (KOD DNA polymerase) の機能解析を行った結果、本酵素は従来の PCR 酵素と比較して DNA の合成速度が速く、長い DNA を合成する能力も高いことを見いだした。実際、KOD DNA polymerase を用いると、従来の Taq 酵素で 2

時間かかっていた PCR の反応時間を約 25 分に短縮できた。また、KOD DNA polymerase の 3'→5' exonuclease 活性を欠失させた改変型酵素と野生型酵素とを最適な割合で混合することにより、より優れた反応効率・伸長性を得ることができた。我々はさらに KOD DNA polymerase の抗体を用いることにより、PCR 反応の初期に見られる誤増幅を抑え、極めて正確で効率の良い DNA 増幅系を確立することができた。本システムは東洋紡績社から「KOD-Plus-」システムとして上梓中であり、また Life Technologies 社より「Platinum™ Pfx DNA polymerase」、Novagen 社より Hifi KOD DNA polymerase として欧米各国で販売されている。最近我々はさらに KOD DNA polymerase の結晶化・X 線構造解析を行い、その立体構造を決定した(右図)。詳細な立体構造に基いて、本酵素の伸長反応の速さ、複製能力の正確さなどがどのような構造に起因するかを解明することができた。

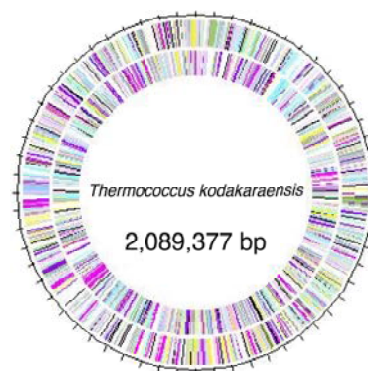


KOD DNA polymerase の立体構造

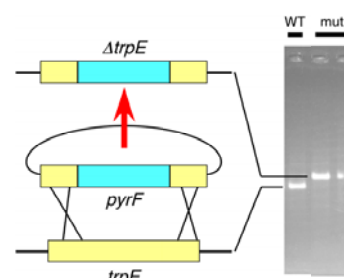
我々は DNA polymerase 以外にも多数の有用耐熱性酵素を同定解析している。遺伝子組換え技術の中で不可欠な酵素である DNA ligase をはじめとし、糖質関連酵素としては、デンプンなどに見られるα(1-4) 結合を切断するα-amylase や環化反応を触媒して cyclodextrin を合成する cyclodextrin glucanotransferase、転移反応を触媒する 4- α-glucanotransferase について生化学的諸性質を明らかにしている。

7) *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株のゲノム解析と遺伝子導入技術の開発

本研究を通じて我々は既に KOD1 株に関して 100 種類以上の遺伝子を解析し、80 種類以上のタンパク質の詳細な生化学的性質を明らかにしてきた。KOD1 株は生物の進化系統樹の根に近いところに位置する極めて単純化された生命体であり、生命の基本メカニズムを理解する上で、本菌は恰好の題材であると考えられる。また、KOD1 株は上述のように新しい特徴を有する酵素や応用可能な耐熱性酵素を多数生産している。このような背景のもと、我々は KOD1 株の全ゲノム解析を進めることにした。KOD1 株のゲノムは 2,089,377 塩基対からなり、予想通り極めて短いものであった(大腸菌の 40%以下)。また、遺伝子の数も少なく 2000 個程度であった(右図)。KOD1 株がこのような少ない数の遺伝子で生命を維持していることから、本菌の研究



KOD1 株のゲノム



KOD1 株の *trpE* 遺伝子の特異的破壊実験

を通じて生命の基本原理の解明も実現可能と期待している。

ポストゲノム研究において最も重要な研究課題は機能未知遺伝子の生理的役割を解明することである。DNA chip による網羅的遺伝子発現解析、proteome による網羅的タンパク質解析はこの目的のために有効な解析法である。我々もこれらの手法を用いて研究を進めているが、最近、もう1つ重要なシステムの構築に成功した。すなわち KOD1 株ゲノム上の任意の遺伝子を特異的に破壊する技術である。これにより機能未知遺伝子を破壊してその影響を解析することにより、その生理的役割を明らかにすることが可能となった（右図）。

KOD1 株が極めて単純な生命体であること、およびゲノム情報・DNA chip 技術・proteome 技術・遺伝子破壊技術が全て確立されていることにより、数年以内に本菌の全遺伝子の機能解明も期待できる。

2. 研究構想と経過の概要

深部地下極限環境（高温、高圧、無酸素、貧栄養）は古くから無菌状態であると信じられていたため、その生態系に関する研究は地表生態系と比べて大幅に遅れていた。しかし、我々は超好熱菌や石油分解菌など地下から地表に出現したとも予想される興味深い微生物を分離していたことから、深部地下には多種多様な未知微生物が存在している可能性が示唆されていた。そこで我々はこの未開拓の深部地下極限環境から新規な微生物を分離し、それらが有するであろう特殊酵素、代謝系や環境適応戦略を解析していくことを研究目標に設定し、本プロジェクトを開始した（図1）。

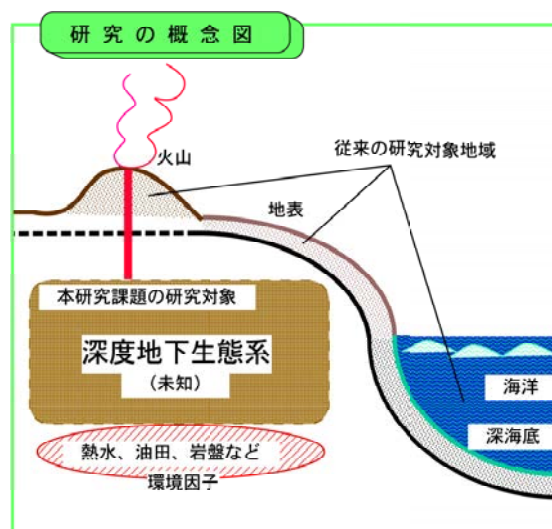


図1 本研究の概念図

研究を効率的に進めるため、我々は並行して2つのアプローチをとった。1つは様々な地下環境より土壌、水、油などのサンプルを採取し、それらから新規微生物の分離を試みた。これは主に京都大学大学院工学研究科（代表：今中忠行）で進めた。もう1つのアプローチでは我々が既に分離していた超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 の遺伝子やタンパク質を中心に生化学的解析を進めた。これは主に大阪大学大学院工学研究科（代表：高木昌宏）で研究を行った。

新規微生物の分離に関しては平成12年度までに興味深い特性を有する新規微生物を多数単離同定することができた。詳細は後述するが、超低温環境で生育できる微生物や超好熱菌では極めて珍しい好気性超好熱菌などを分離することができた。またこれらの新規微生物に関しては、有用酵素のスクリーニングも行った。低温菌からは低温でも高い活性を

示す脂質分解酵素 lipase を単離し、その酵素学的特性を明らかにした。好気性超好熱菌は好気性微生物に特有の manganese catalase を多量に生産しており、本酵素の生化学的解析を進めた。本菌からはさらに超耐熱性を示し、優れた基質特異性を有する esterase も単離できた。いずれの酵素も既存の微生物由来酵素と異なった特性を有していることから、産業への利用が期待されている。

T. kodakaraensis KOD1 由来タンパク質の解析については、まずタンパク質の耐熱化機構の解明を目指して研究を進めた。数種のタンパク質の立体構造を明らかにし、常温菌由来酵素の構造と比較することにより、タンパク質の耐熱化に必要な構造的特徴を明らかにすることができた。主な特徴としてタンパク質内部の疎水性相互作用および分子表面のイオン結合性相互作用の増強が挙げられる。また、一般的なタンパク質が熱変性するのに対して、超好熱菌由来酵素は正しい立体構造をとるためには高温環境が必要であることも見出した。この現象を我々は「heat maturation＝熱成熟」と名付け、これは超好熱菌由来耐熱性タンパク質の新しい概念として定着している。

平成 12 年度から、*T. kodakaraensis* KOD1 株のゲノムが極めて小さいものであることに着目して、遺伝子レベル・タンパク質レベルで網羅的な解析を開始した。遺伝子レベルではまず KOD1 株のゲノム解析を進めることにした。ゲノムが小さいことは遺伝子の数も少ないことを意味するので、KOD1 株においては生命を維持するための様々なメカニズムが極めて単純化されていることが予想された。ゲノム解析の結果、KOD1 株のゲノムは 2,089,377 bp であり、

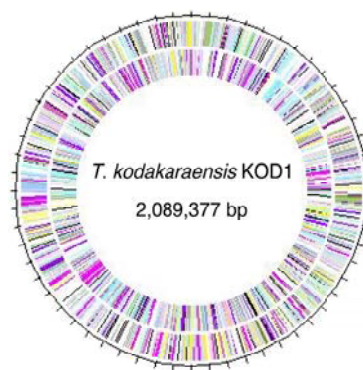


図 2 *T. kodakaraensis* KOD1 株のゲノム

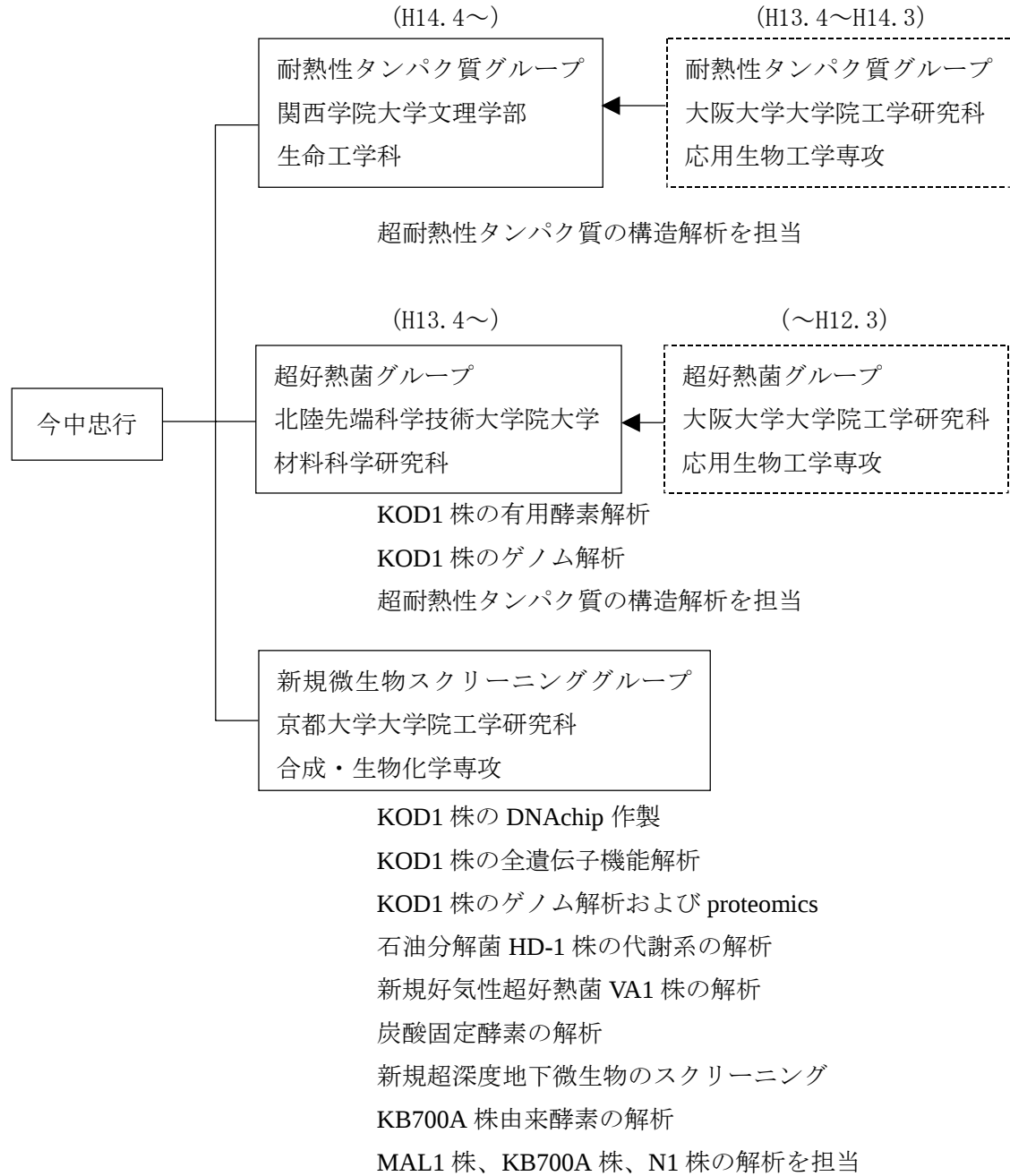
約 2300 の open reading frame を有した(図 2)。KOD1 株は大腸菌などの細菌と比較して約半分の遺伝情報で生命を維持していることが判明した。次の目標としてはこれらの遺伝子の機能解析を目指したが、既存の方法では機能未知遺伝子の機能を同定するための有効な解析手段が存在しなかった。そこで我々は、それまでに超好熱菌において開発されていなかった遺伝子破壊系の構築を試みた。平成 13 年度の半ばに原核生物ではあまり起こらないとされていた double crossover 法により KOD1 株の遺伝子破壊系の構築に成功した。これは超好熱菌研究においては milestone (=革命的な成果) として国際的に高く評価されている。現在多数の超好熱菌ゲノムが解読されているが、遺伝学的手法を用いて未知遺伝子の機能を解析できるのは現在のところ KOD1 株のみである。

現在は遺伝子破壊系を利用した未知遺伝子の機能解析を進めており、これと並行して DNA chip を用いた各遺伝子の発現様式も検討している。さらに KOD1 株内に存在する全タンパク質の 2 次元電気泳動による proteome 解析も行っている。これらの解析を通じて、多数の新規遺伝子の機能が明らかにできると期待している。これにより、単純な生命形態の 1 つである *T. kodakaraensis* KOD1 株が如何なるメカニズム (生命の基本原) により生

命を維持しているかを解明できると考えている。また新規機能を有する酵素や代謝系の同定も期待されるので、これらを利用した新しい技術の開発を行っていく予定である。

3. 研究実施体制

(1) 体制



4. 研究中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

該当なし

5. 研究成果の発表

(1) 論文発表

原著論文

2002 年

1. “Targeted gene disruption by homologous recombination in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1”, T. Sato, T. Fukui, H. Atomi, and T. Imanaka, **J. Bacteriol.**, in press.
2. “Construction and highly cytoplasmic expression of a tumoricidal single-chain antibody against hepatocellular carcinoma”, D. Sandee, S. Tungpradabkul, M. Tsukio, T. Imanaka, and M. Takagi, **BMC Biotechnology**, in press.
3. “Biophysical effect of amino acids on the prevention of protein aggregation”, K. Shiraki, M. Kudou, S. Fujiwara, T. Imanaka, and M. Takagi, **J. Biochem.**, in press.
4. “Gene cloning and characterization of fructose-1,6-bisphosphate aldolase from the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1”, H. Imanaka, T. Fukui, H. Atomi, and T. Imanaka, **J. Biosci. Bioeng.**, 94(3), 237-243, (2002).
5. “Extremely stable and versatile carboxylesterase from a hyperthermophilic archaeon”, Y. Hotta, S. Ezaki, H. Atomi, and T. Imanaka, **Appl. Environ. Microbiol.**, 68, 3925-3931 (2002).
6. “Tk-PTP, protein tyrosine/serine phosphatase from hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1: Enzymatic characteristics and identification of its substrate proteins”, S.-J. Jeon, S. Fujiwara, M. Takagi, T. Tanaka, and T. Imanaka, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 295, 508-514 (2002).
7. “The unique pentagonal structure of an archaeal Rubisco is essential for its high thermostability”, N. Maeda, T. Kanai, H. Atomi, and T. Imanaka, **J. Biol. Chem.**, 277, 31656-31662 (2002).
8. “A novel candidate for the true fructose 1,6-bisphosphatase in archaea”, N. Rashid, H. Imanaka, T. Kanai, T. Fukui, H. Atomi, T. Imanaka, **J. Biol. Chem.**, 277, 30649-30655 (2002).
9. “A fundamental study on bio-control of environmental mosquito problems: Genetic and biological characterization of potentially novel insecticide bacteria”, P. Luxananil, H. Atomi, U. Chaisri, S. Tungpradabkul, S. Panyim, and T. Imanaka, **J. Environ. Biotechnol.**, in press.
10. “Kinetic and biochemical analyses on the reaction mechanism of a bacterial ATP-citrate lyase”, T. Kanao, T. Fukui, H. Atomi, T. Imanaka, **Eur. J. Biochem.**, 269, 3409-3416 (2002).
11. “A membrane-bound archaeal Lon protease displays ATP-independent proteolytic activity towards unfolded proteins along with ATP-dependent activity for folded proteins”, T. Fukui, T. Eguchi, H. Atomi, and T. Imanaka, **J. Bacteriol.**, 184, 3689-3698 (2002).
12. “Unique presence of manganese catalase in a hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum caldifontis* VA1”, T. Amo, H. Atomi, and T. Imanaka, **J. Bacteriol.**, 184, 3305-3312 (2002).
13. “Catalyzing “Hot” reactions: Enzymes from hyperthermophilic archaea”, T. Imanaka and H.

Atomi, *The Chemical Record*, 2,149-163 (2002).

14. "Pyrobaculum calidifontis sp. nov., a novel hyperthermophilic archaeon that grows under atmospheric air", T. Amo, M.L.F. Paje, A. Inagaki, S. Ezaki, H. Atomi, and T. Imanaka, *Archaea*, 1,113-121 (2002).
15. "Tumor suppressive monoclonal antibody belonging to the VH7183 family directed to the oncodevelopmental carbohydrate antigen on human hepatocellular carcinoma", D. Sandee, S. Tungpradabkul, K. Laohathai, B. Punyammalee, K. Kohda, M. Takagi, and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 93, 266-273 (2002).
16. "Characterization of isocitrate dehydrogenase from the green sulfur bacterium Chlorobium limicola: A carbon dioxide-fixing enzyme in the reductive tricarboxylic acid cycle", T. Kanao, M. Kawamura, T. Fukui, H. Atomi, and T. Imanaka, *Eur. J. Biochem.*, 269, 1926-1931 (2002)
17. "Cellular toxicity of cadmium ions and their detoxification by heavy metal-specific plant peptides, phytochelatins, expressed in mammalian cells", M. Takagi, H. Satofuka, S. Amano, H. Mizuno, Y. Eguchi, K. Hirata, K. Miyamoto, K. Fukui, and T. Imanaka, *J. Biochem.*, 131, 233-239 (2002)
18. "Substrate recognition and fidelity of strand joining by an archaeal DNA ligase", M. Nakatani, S. Ezaki, H. Atomi, and T. Imanaka, *Eur. J. Biochem.*, 269, 650-656 (2002)
19. "Characterization of an archaeal cyclodextrin glucanotransferase with a novel C-terminal domain", N. Rashid, J. Cornista, S. Ezaki, T. Fukui, H. Atomi, and T. Imanaka, *J. Bacteriol.*, 184, 777-784 (2002)

2001 年

20. "Low-temperature lipase from phychrotrophic Pseudomonas sp. strain KB700A", N. Rashid, Y. Shimada, S. Ezaki, H. Atomi, and T. Imanaka, *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 4064-4069 (2001)
21. "Conformational stability of a hyperthermophilic protein in various conditions for denaturation", K. Shiraki, S. Fujiwara, T. Imanaka, and M. Takagi, *Electrochemistry*, 69, 949-952 (2001)
22. "Different cleavage specificities of the dual catalytic domains in chitinase from the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", T. Tanaka, T. Fukui, and T. Imanaka, *J. Biol. Chem.*, 276, 35629-35635 (2001)
23. "Isolation of bacterial strains colonizable in mosquito larval guts as novel host cells for mosquito control", P. Luxananil, H. Atomi, S. Panyim, and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 92, 342-345 (2001)
24. "Active subtilisin-like protease from a hyperthermophilic aechaeon in a form with a putative prosequence", Y. Kannan, Y. Koga, Y. Inoue, M. Haruki, M. Takagi, T. Imanaka, M. Morikawa, and S. Kanaya, *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 2445-2452 (2001)
25. "Interaction of TIP26 from a hyperthermophilic archaeon with TFB/TBP/DNA ternary complex", T. Matsuda, M. Fujikawa, M. Haruki, X.F. Tang, S. Ezaki, T. Imanaka, M. Morikawa, and S. Kanaya, *Extremophiles*, 5, 177-182 (2001)
26. "Isolation and characterization of phycrotrophic bacteria from oil-reservoir water and oil sands", T. Kato, M. Haruki, T. Imanaka, M. morikawa, and S. Kanaya, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55, 794-800 (2001)

27. "Comparative analyses of the conformational stability between a hyperthermophilic protein and its mesophilic counterpart", K. Shiraki, S. Nishikori, S. Fujiwara, H. Hashimoto, Y. Kai, M. Takagi, and T. Imanaka, **Eur. J. Biochem.**, 268, 1-8 (2001)
28. "Extracellular synthesis, specific recognition, and intracellular degradation of cyclomaltodextrins by the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus* sp. strain B101", Y. Hashimoto, T. Yamamoto, S. Fujiwara, M. Takagi, and T. Imanaka, **J. Bacteriol.**, 183, 5050-5057 (2001)
29. "Metal-binding properties of phytochelatin-related peptides", H. Satofuka, T. Fukui, M. Takagi, H. Atomi, and T. Imanaka, **J. Inorg. Biochem.**, 86(2/3), 595-602, (2001)
30. "Crystal structure of a novel-type archaeal Rubisco with pentagonal symmetry", K. Kitano, N. Maeda, T. Fukui, H. Atomi, T. Imanaka, K. Miki, **Structure**, 9, 473-481 (2001)
31. "Methylguanine methyltransferase from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", M. Takagi, Y. Kai, and T. Imanaka, **Methods Enzymol.**, 334, 239-248 (2001)
32. "RecA/Rad51 homolog from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", N. Rashid, M. Morikawa, S. Kanaya, H. Atomi, and T. Imanaka, **Methods Enzymol.**, 334, 261-270 (2001)
33. "Chaperonin from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", S. Fujiwara, M. Takagi, and T. Imanaka, **Methods Enzymol.**, 334, 293-301 (2001)
34. "Evolution of PCR Enzymes: Towards a better PCR system based on a KOD DNA polymerase", T. Imanaka and M. Takagi, **J. Chin. Inst. Chem. Engrs.**, 32, 277-288 (2001)
35. "Enhanced signal transduction by a directly fused protein of interleukin-6 and its receptor", H. Mizuguchi, H. Mizuno, K. Yasukawa, T. Ishiguro, K. Fukui, T. Imanaka, and M. Takagi, **J. Biosci. Bioeng.**, 91, 299-304 (2001)
36. "Long and accurate PCR with a mixture of KOD DNA polymerase and its exonuclease deficient mutant enzyme", M. Nishioka, H. Mizuguchi, S. Fujiwara, S. Komatsubara, M. Kitabayashi, H. Uemura, M. Takagi, and T. Imanaka, **J. Biotechnol.**, 88, 141-149 (2001)
37. "Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", H. Atomi, S. Ezaki, and T. Imanaka, **Methods Enzymol.**, 331, 353-365 (2001)
38. "ATP-citrate lyase from the green sulfur bacterium *Chlorobium limicola* is a heteromeric enzyme composed of two distinct gene products", T. Kanao, T. Fukui, H. Atomi and T. Imanaka, **Eur. J. Biochem.**, 268, 1670-1678 (2001)
39. "Anthranilate synthase without an LLES motif from a hyperthermophilic archaeon is inhibited by tryptophan", X.-F. Tang, S. Ezaki, H. Atomi and T. Imanaka, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 281, 858-865 (2001)
40. "Chitinase from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", T. Imanaka, T. Fukui and S. Fujiwara, **Methods Enzymol.**, 330, 319-329 (2001)
41. "Thiol protease from *Thermococcus kodakaraensis* KOD1", M. Morikawa and T. Imanaka, **Methods Enzymol.**, 330, 424-33 (2001)
42. "Crystal structure of DNA polymerase from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1", H. Hashimoto, M. Nishioka, S. Fujiwara, M. Takagi, T. Imanaka, T. Inoue, Y. Kai, **J. Mol. Biol.**, 306, 469-77 (2001)
43. "Two kinds of archaeal chaperonin with different temperature dependency from a hyperthermophile", M. Izumi, S. Fujiwara, M. Takagi, K. Fukui and T. Imanaka, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 280, 581-587 (2001)

44. “Utilization of immobilized archaeal chaperonin for enzyme stabilization”, M. Izumi, S. Fujiwara, M. Takagi, K. Fukui and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 91, 316-318 (2001)
45. “Gene cloning of an alcohol dehydrogenase from thermophilic alkane-degrading *Bacillus thermoleovorans* B23”, T. Kato, A. Miyana, M. Haruki, T. Imanaka, M. Morikawa and S. Kanaya, *J. Biosci. Bioeng.*, 91, 100-102 (2001)
46. “Isolation and characterization of long-chain-alkane degrading *Bacillus thermoleovorans* from deep subterranean petroleum reservoirs”, T. Kato, M. Haruki, T. Imanaka, M. Morikawa and S. Kanaya, *J. Biosci. Bioeng.*, 91, 64-70 (2001)
47. “Unique nucleotid structure during cell division of *Thermococcus kodakaraensis* KOD1”, S.-J. Jeon, S. Fujiwara, M. Takagi, K. Fukui and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 91, 40-43 (2001)

2000 年

48. “A DNA ligase from a hyperthermophilic archaeon with unique cofactor specificity”, M. Nakatani, S. Ezaki, H. Atomi and T. Imanaka, *J. Bacteriol.*, 182, 6424-6433 (2000)
49. “Anti-phytochelatin monoclonal antibody”, H. Satofuka, S. Amano, T. Fukui, H. Atomi, M. Takagi and T. Imanaka, *Biotechnol. Lett.*, 22, 1423-1428 (2000)
50. “Biochemical analysis of a thermostable tryptophan synthase from a hyperthermophilic archaeon”, X.-F. Tang, S. Ezaki, H. Atomi and T. Imanaka, *Eur. J. Biochem.*, 267, 6369-6377 (2000)
51. “Crystallographic study of intein homing endonuclease II encoded in the archaeal DNA polymerase gene”, H. Hashimoto, H. Takahashi, M. Nishioka, S. Fujiwara, M. Takagi, T. Imanaka, T. Inoue and Yasushi Kai, *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 56, 1185-1186 (2000)
52. “Alteration of product specificity of cyclodextrin glucanotransferase from *Thermococcus* sp. B1001 by site directed mutagenesis”, T. Yamamoto, S. Fujiwara, Y. Tachibana, M. Takagi, K. Fukui and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 89, 206-209 (2000)
53. “Acceptor specificity of α -glucanotransferase from *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1, and synthesis of cycloamylose”, Y. Tachibana, T. Takaha, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 90, 406-409 (2000)
54. “Characterization of FtsZ homolog from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1”, K. Nagahisa, T. Nakamura, S. Fujiwara, T. Imanaka, and M. Takagi, *J. Biosci. Bioeng.*, 89, 181-187 (2000)
55. “Effect of polyamines on histone-induced DNA compaction of hyperthermophilic archaea”, H. Higashibata, S. Fujiwara, S. Ezaki, M. Takagi, K. Fukui, and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 89, 103-106 (2000)
56. “Screening of an oligopeptide antagonist for interleukin 6 from a random phage library”, H. Mizuguchi, T. Kubomi, R. Nomura, K. Yasukawa, T. Imanaka and M. Takagi, *Biotechnol. Lett.*, 22, 1015-1020 (2000)
57. “A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants”, M. Morikawa, Y. Hirata and T. Imanaka, *Biochim. Biophys. Acta*, 1488, 211-218 (2000)
58. “Overproduction in *Escherichia coli*, purification and characterization of a family I.3 lipase from *Pseudomonas* sp. MIS38”, K. Amada, M. Haruki, T. Imanaka, M. Morikawa and S. Kanaya, *Biochim. Biophys. Acta*, 1478, 201-210 (2000)

59. "Crystallization and preliminary X-ray study of Pk--REC from a hyperthermophilic archaeon, *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1", K. Harata, N. Ishii, N. Rashid, M. Morikawa and T. Imanaka, *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 56, 648-649 (2000)

1999 年

60. "In vitro heat effect on functional and conformational changes of cyclodextrin glucanotransferase from hyperthermophilic archaea." T. Yamamoto, K. Shiraki, S. Fujiwara, M. Takagi, K. Fukui and T. Imanaka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 265, 57-61, (1999)
61. "Identification of the gene encoding esterase, a homolog of hormone-sensitive lipase, from an oil-degrading bacterium, strain HD-1.", S. Mizuguchi, K. Amada, M. Haruki, T. Imanaka, M. Morikawa and S. Kanaya, *J. Biochem.*, 126, 731-737, (1999)
62. "Pk-cdcA, encodes a CDC48/VCP homologue in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1: transcriptional and enzymatic characterization.", S. J. Jeon, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *Mol. Gen. Genet.*, 262, 559-567, (1999)
63. "Hyperthermostable protein structure maintained by intra and inter-helix ion-pairs in archaeal O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase.", H. Hashimoto, T. Inoue, M. Nishioka, S. Fujiwara, M. Takagi, T. Imanaka and Y. Kai, *J. Mol. Biol.*, 292, 707-716, (1999)
64. "Characterization and application to hot start PCR of neutralizing monoclonal antibodies against KOD DNA polymerase.", H. Mizuguchi, M. Nakatsuji, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *J. Biochem.*, 126, 762-768, (1999)
65. "Characterization of petroleum-degrading bacteria from oil-contaminated sites in Vietnam.", N. Q. Huy, S. Jin, K. Amada, M. Haruki, N.B. Huu, D.T. Hang, D.T.C. Ha, T. Imanaka, M. Morikawa and S. Kanaya, *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 100-102, (1999)
66. "Gene cloning and characterization of aldehyde dehydrogenase from a petroleum-degrading bacterium strain HD-1.", N. Okibe, K. Amada, S. Hirano, M. Haruki, T. Imanaka, M. Morikawa and S. Kanaya, *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 7-11, (1999)
67. "Sequence and transcriptional studies of five clustered flagellin genes from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1.", K. Nagahisa, S. Ezaki, S. Fujiwara, T. Imanaka and M. Takagi, *FEMS Microbiol. Lett.*, 178, 183-190, (1999)
68. "The concept of the α -amylase family; structural similarity and common catalytic mechanism.", T. Kuriki and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 87, 557-565, (1999)
69. "Analysis of DNA compaction profile and intracellular contents of archaeal histones from *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1.", H. Higashibata, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 258, 416-424, (1999)
70. "Purification and characterization of an extremely thermostable cyclomaltodextrin glucanotransferase from a newly isolated hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus* sp.", Y. Tachibana, A. Kuramura, N. Shirasaka, Y. Suzuki, T. Yamamoto, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1991-1997, (1999)
71. "Isolation of TBP-interacting protein (TIP) from a hyperthermophilic archaeon that inhibits the binding of TBP to TATA-DNA.", T. Matsuda, M. Morikawa, M. Haruki, H. Higashibata, T. Imanaka and S. Kanaya, *FEBS Lett.*, 457, 38-42, (1999)
72. "The expression of tryptophan biosynthesis gene cluster *trpCDEGFBA* from *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1 is regulated at the transcriptional level as a single mRNA.", X. Tang, S.

- Ezaki, S. Fujiwara, M. Takagi, H. Atomi and T. Imanaka, *Mol. Gen. Genet.*, 262, 815-821, (1999)
73. "Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1 is composed solely of large subunits and forms a pentagonal structure.", N. Maeda, K. Kitano, T. Fukui, S. Ezaki, H. Atomi, K. Miki and T. Imanaka, *J. Mol. Biol.*, 293, 57-66, (1999)
 74. "A unique chitinase with dual active sites and triple substrate binding sites from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1.", T. Tanaka, S. Fujiwara, S. Nishikori, T. Fukui, M. Takagi and T. Imanaka, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 5338-5344, (1999)
 75. "Presence of a structurally novel type ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in the hyperthermophilic archaeon, *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1", S. Ezaki, N. Maeda, T. Kishimoto, H. Atomi and T. Imanaka, *J. Biol. Chem.*, 274(8), 5078-5082, (1999)
 76. "A unique DNase activity shares the active site with ATPase activity of RecA/Rad51 homologue (Pk-REC) from a hyperthermophilic archaeon", N. Rashid, M. Morikawa, S. Kanaya, H. Atomi and T. Imanaka, *FEBS Letters*, 445(1), 111-114, (1999)
 77. "Isolation and characterization of a second subunit of molecular chaperonin from *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1: Analysis of ATPase deficient mutant", M. Izumi, S. Fujiwara, M. Takagi, S. Kanaya and T. Imanaka, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1801-1805, (1999)
 78. "Crystallographic studies on family B DNA polymerase from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* strain KOD1", H. Hashimoto, T. Matsumoto, M. Nishioka, T. Yuasa, S. Takeuchi, T. Inoue, S. Fujiwara, M. Takagi, T. Imanaka and Y. Kai, *J. Biochem* (Tokyo), 125, 983-986, (1999)
 79. "Isolation and characterization of psychrotrophs from subterranean environments", N. Rashid, H. Kikuchi, S. Ezaki, H. Atomi and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 87 (6), 746-751, (1999)
 80. "Gene Analysis and Enzymatic Properties of Thermostable β -Glycosidase from *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1", S. Ezaki, K. Miyaoku, K. Nishi, T. Tanaka, S. Fujiwara, M. Takagi, H. Atomi and T. Imanaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 88, 130-135, (1999)

1998 年

81. "Ion pairs involved for maintaining a thermostable structure of glutamate dehydrogenase (GDH) from a hyperthermophilic archaeon", R.N.Z.A. Rahman, S. Fujiwara, H. Nakamura, M. Takagi and T. Imanaka, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 248, 920-926, (1998)
82. "Sequence analysis of glutamate dehydrogenase (GDH) from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus* sp. KOD1 and comparison of enzyme characteristics of native and recombinant GDHs", R.N.Z.A. Rahman, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *Mol. Gen. Genet.*, 257, 338-347 (1998)
83. "Comparison of two glutamate producing enzymes from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus* sp. KOD1" B. Jongsareejit, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *FEMS Microbiol. Lett.*, 158, 243-248 (1998)
84. "The O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase from a hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus* sp. KOD1: a thermostable repair enzyme", M. M. Leclerc, M. Nishioka, T. Yuasa, T. Fujiwara, S. Takagi and T. Imanaka, *Mol. Gen. Genet.*, 258, 69-77 (1998)

85. “Rational design for stabilization and optimum pH shift of serine protease AprN”, A. Masui, N. Fujiwara, K. Yamamoto, M. Takagi and T. Imanaka, *J. Ferment. Bioeng.*, 85, 30-36 (1998)
86. “Characterization of two intein homing endonucleases encoded in the DNA polymerase gene from *Pyrococcus kodakaraensis* strain KOD1”, M. Nishioka, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *Nucleic Acids Res.*, 26, 4409-4412 (1998)
87. “Phylogenetic analysis and effect of heat on conformational change of ferredoxin from hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus* sp. KOD1”, M.A. Siddiqui, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *J. Ferment. Bioeng.*, 85, 271-277 (1998)
88. “Crystal structure of aspartyl-tRNA synthetase from *Pyrococcus kodakaraensis* KOD; archaeon specificity and catalytic mechanism of adenylate formation”, E. Schmitt, L. Moulinier, S. Fujiwara, T. Imanaka, J. Thierry and D. Moras, *EMBO J.*, 17, 5227-5237 (1998)
89. “Archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1: application and evolution”, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *Biotechnol Annu. Rev.*, 4, 259-284 (1998)
90. “Gene cloning and characterization of recombinant RNase HII from a hyperthermophilic archaeon”, M. Haruki, K. Hayashi, T. Kochi, A. Muroya, Y. Koga, M. Morikawa, T. Imanaka and S. Kanaya, *J. Bacteriol.*, 180, 6207-6214 (1998)
91. “In vitro heat effect on heterooligomeric subunit assembly of thermostable indolepyruvate ferredoxin oxidoreductase”, M.A. Siddiqui, S. Fujiwara, M. Takagi and T. Imanaka, *FEBS Lett.*, 434, 372-376 (1998)
92. “Thermostable glycerol kinase from a hyperthermophilic archaeon: gene cloning and characterization of the recombinant enzyme”, Y. Koga, M. Morikawa, M. Haruki, H. Nakamura, T. Imanaka and S. Kanaya, *Protein Engineering*, 11, 1219-1227, (1998)
93. “Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of archaeal O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase”, H. Hashimoto, M. Nishioka, T. Inoue, S. Fujiwara, M. Takagi, T. Imanaka and Y. Kai, *Acta Crystallographica*, D54, 1395-1396, (1998)
94. “Production of alkane and alkene from CO₂ by a petroleum-degrading bacterium”, M. Morikawa, T. Iwasa, S. Yanagida and T. Imanaka, *J. Ferment. Bioeng.*, 85, 243-245, (1998)

総説・著書・執筆

95. “Catalyzing ‘Hot’ Reactions: Enzymes from Hyperthermophilic Archaea”, Tadayuki Imanaka and Haruyuki Atomi, *The Chemical Records*, 2(3), 149-163, 2002.
96. “Rational Design of Functional Proteins”, Tadayuki Imanaka and Haruyuki Atomi, Chap.3, Pg.67-93, in *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook, 2nd completely revised and enlarged Edition*. Ed. by Karlheinz Drauz, Herbert Waldmann, Wiley-VCH, 2002.
97. 「非光合成微生物による CO₂ 固定系」: 今中忠行、跡見晴幸。ECOINDUSTRY、7 巻、1 号、61-72、2002.
98. 「Rubisco に依存しない炭酸固定系～緑色硫黄細菌の炭酸固定系～」: 跡見晴幸、福居俊昭、今中忠行。バイオサイエンス&インダストリー、60、1 号、23-26、2002.
99. 「微生物利用の大展開」: 今中忠行 監修。エヌ・ティー・エス
100. 「地球の歴史と生命の進化」: 今中忠行。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.3-7、2002.
101. 「始原菌」: 藤原伸介。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.35-45、2002.

102. 「好熱性微生物」：藤原伸介。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.122-129、2002.
103. 「新規微生物・遺伝子資源の探索」：藤原伸介。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.262-267、2002.
104. 「遺伝子マッピング」：金井 保。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.462-468、2002.
105. 「DNA の塩基配列決定法」：跡見晴幸。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.481-494、2002.
106. 「PCR 法」：高木昌宏。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.495-500、2002.
107. 「LCR 法—原理と方法論」：江崎 聡。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.501-506、2002.
108. 「生分解性プラスチックとしての微生物ポリエステル」：福居俊昭。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.1003-1011、2002.
109. 「遺伝子診断法」：高木昌宏。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.1028-1034、2002.
110. 「LCR 法による変異の検出」：江崎 聡。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.1035-1037、2002.
111. 「炭酸固定経路」：跡見晴幸。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.1066-1079、2002.
112. 「生物的石油生産」：今中忠行。微生物利用の大展開、エヌ・ティー・エス、Pg.1122-1128、2002.
113. 「地球環境とバイオテクノロジー特集」：今中忠行。BIOINDUSTRY、19 巻、1 号、5-6、2002.
114. 「極限環境微生物の特殊能力の利用」：跡見晴幸。BIOINDUSTRY、19 巻、1 号、18-27、2002.
115. 「生分解性プラスチックの微生物生産」：福居俊昭。BIOINDUSTRY、19 巻、1 号、63-69、2002.
116. “Apoptotic signal transduction by cadmium ion and detoxification by plant peptides”, Masahiro Takagi, Hiroyuki Satofuka, and Tadayuki Imanaka. ACS symposium series 830, Biological systems engineering, American Chemical Society, 163-176, 2002.
117. 「超好熱菌由来タンパク質の準安定構造とネイティブ構造への転移—熱成熟とよばれる現象」：白木賢太郎、高木昌宏、今中忠行。生物物理、第 42 巻、第 4 号、185-188、2002.
118. 「構造的に新しい超好熱始原菌由来 Rubisco」：跡見晴幸。酵素工学ニュース、第 47 号、9-14、2002.
119. 「極限環境微生物の探索と利用」：今中忠行。生物工学会誌、第 80 巻、第 1 号、2-9、2002.
120. 「環境工学と酵素利用技術」：今中忠行。最新酵素利用技術と応用展開、監修：相澤益男、シーエムシー、334-339、2001.
121. 「固定化生体触媒」：跡見晴幸、田中渥夫。最新酵素利用技術と応用展開、監修：相澤益男、シーエムシー、230-238、2001.
122. 「誘導・制御」：今中忠行。生物工学実験書、日本生物工学会編、培風館、80-81、2001.
123. 「石油発酵」：今中忠行。発酵ハンドブック、共立出版、241、2001.

124. 「極限環境微生物の探索と利用」：今中忠行。バイオサイエンス&インダストリー、59、12 号、11-16、2001.
125. 「微生物の Calvin-Benson 回路と 3-Hydroxypropionate 回路」：跡見晴幸、今中忠行。日本生物工学会誌、79 巻、10 号、395-400、2001.
126. 「21 世紀のバイオテクノロジー」：今中忠行。高分子科学とバイオテクノロジーとのキャッチボール、ポリマーフロンティア 21 シリーズ、高分子学会編、エヌ・ティー・エス、1-32、2001.
127. 「地下微生物の多様性と炭素循環への寄与」：今中忠行、跡見晴幸。月刊地球「プレート沈み込み帯における物質循環」号外 No.32、106-116、2001.
128. 「環境バイオテクノロジーの現状と将来展望」：今中忠行。植物による環境負荷低減技術-ファイトレメディエーション、エヌ・ティー・エス、1-46、2000.
129. 「21 世紀へ向けて-多様な微生物資源と遺伝子資源を求めて」：今中忠行。生物工学会誌特別号「発酵工学 20 世紀のあゆみ」ーバイオテクノロジーの源流を辿るー 日本生物工学会特別号、103-107、2000.
130. 「地下微生物の探索と利用」：今中忠行。人類とバイオーゲノム解析と遺伝子特許ー東京テクノ・フォーラム 21 編、209-239、2000.
131. 「微生物の多様性と応用」：今中忠行。ケミカルエンジニアリング、Vol.45, No.11, 12-17, 2000
132. 「微生物による炭酸固定」。跡見晴幸。ケミカルエンジニアリング、Vol.45, No.11, 24-30, 2000
133. 「極限環境の微生物」。今中忠行。生物の科学 遺伝 「地球の進化・生命の進化」別冊 No.12、93-102、2000.
134. 「資源に関連した地下微生物活動と物理探査への期待」：今中忠行。物理探査、第 53 巻、第 6 号、489-498、2000.
135. 「生物を利用した環境保全」：今中忠行。バイオサイエンスとインダストリー、Vol.57, No.4, 234, 1999.
136. 「バイオ・レメディエーション：自然の浄化作用が究極の手法」：今中忠行。化学、Vol.54, No.1, 31-33, 1999.
137. 「耐熱性タンパク質と超好熱菌の利用」：藤原伸介、高木昌宏、今中忠行。BIOINDUSTRY、Vol.16, No.12, 13-20, 1999.
138. 「超好熱始原菌シャペロニンの機能と応用」：今中忠行。酵素工学ニュース、4 月号、21-24, 1999.
139. 「最も高い温度に耐える微生物」：今中忠行。別冊化学：化学の世界記録集、132-135, 1999.
140. 「DNA シークエンシングの化学反応」：今中忠行、跡見晴幸。化学と教育、Vol.47, No.4, 260-263, 1999.
141. 「地下極限環境微生物の探索と利用」：今中忠行、跡見晴幸。月刊海洋・号外 No.19, 161-167, 1999.
142. 「地球の未来を任されるか？石油をつくる細菌」：今中忠行。ミクロスコピア、Vol.16, No.3, 176-181, 1999.
143. 「超好熱菌 Rubisco による炭酸固定？」：跡見晴幸、今中忠行。バイオサイエンスとインダストリー、Vol.57, No.10, 689-690, 1999.
144. 「CO₂ 問題に対する一私見」：今中忠行。RITE NOW、Vol.33, 2-3, 1999.

145. 「環境バイオテクノロジーの現状と将来」：今中忠行。環境管理、Vol.35, No.6, 513-515, 1999.
146. Production of alkane and alkene from CO₂ by a petroleum-degrading bacterium strain HD-1. Masaaki Morikawa, Toru Iwasa, K. Nagahisa, S. Yanagida, & Tadayuki Imanaka, *Studies in Surface Science and Catalysis*, Vol.114, 467-470, 1998.
147. 「超好熱菌研究の最前線」：今中忠行。日本生物工学会誌、Vol.76, No.6, 255-256, 1998.
148. 「超好熱始原菌における酵素の分子認識の多様性」：江崎 聡、跡見晴幸。日本生物工学会誌、Vol.76, No.6, 269-271, 1998.
149. 「炭酸ガスからの石油生成」：森川正章、金 沙、金谷茂則、今中忠行。日本農芸化学会誌、Vol.72, No.4, 532-534, 1998.
150. 「Flagellin を用いた細胞表面提示システム」：江崎 聡、今中忠行。日本生物工学会誌、Vol.76, No.12, 495-497, 1998.
151. 「CO₂ から石油を作る細菌」：今中忠行。Microbes and Environments, Vol.13, No.3, 171-175, 1998.
152. 「タンパク質工学」：今中忠行。21 世紀の天然・生体高分子材料、289-297, 1998.
153. 「Chemical Biology の勧め」：今中忠行。化学と工業、Vol.51, No.6, 886-888, 1998.
154. 「100℃でも生きる菌」：今中忠行。あれきてる、No.70, 5, 1998.

(2) 特許出願

1. 発明名称：「遺伝子のターゲティング破壊法」

事業団整理番号：A062P96

出願日：平成 14 年 8 月 30 日

(超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株のゲノム上の全ての遺伝子を網羅する特許)

(3) 新聞報道等

①新聞報道

新聞社名	タイトル	年月日
NTS ニュース	生命の基本原理解明、人工細胞完成も射程距離に入っています。微生物利用はまさに大展開。	Jul. 2002
産経新聞	石油生成する微生物解明へ	Apr.22, 2002
朝日新聞	人工石油へ道 合成菌解析 遺伝子、2194 まで探索	Mar.7, 2002
静岡新聞	調査進む相良油田	Feb.4, 2002
産経新聞	石油合成能力に期待 超高熱始原菌「KID 1」試薬の高性能化に威力	Jan. 1, 2002
中日新聞	相良油田を 2 月から掘削	Dec.20, 2001
静岡新聞	相良油田 微生物関与実証へ	Dec.20, 2001
中日新聞	「微生物が石油生成」検証	Dec.20, 2001
京都新聞	石油の出来方、定説覆す？	Dec.18, 2001
北海道新聞	油田形成に細菌関与？	Jul.24, 2001
岩手日報	油田つくったのは細菌？ 意外な仮説発掘調査へ	Jul.24, 2001

新聞社名	タイトル	年月日
秋田魁新報	細菌が油田をつくる？ 石油の成因論に新説	Jul.24, 2001
山形新聞	石油つくったのは細菌	Jul.24, 2001
デーリー東北	細菌が油田をつくった？ 来年 2 月にも掘削調査	Jul.24, 2001
北日本新聞	静岡県で発見の石油生成細菌 油田形成に関与か	Jul.24, 2001
信濃毎日新聞	「化石燃料の石油」に意外な成因説 細菌が働き油田作る？	Jul.24, 2001
中日新聞	細菌が油田をつくる？ 石油成分を蓄積仮説検証へ	Jul.24, 2001
岐阜新聞	「油田」つくったのは細菌？ 仮説検証へ掘削調査	Jul.24, 2001
京都新聞	油田作ったのは細菌の働き？ 発掘調査で検証へ なぞに迫る試み 人工油田の夢も	Jul.24, 2001
神戸新聞	石油生成菌のナゾ解明	Jul.24, 2001
大分合同新聞	細菌が石油作った？ 静岡で掘削調査へ 起源のなぞに迫る試み	Jul.24, 2001
宮崎日日新聞	細菌が油田をつくる？ 相良油田を掘削調査へ	Jul.24, 2001
琉球新報	石油つくったのは細菌？ 起源のなぞに迫る 細菌使う人工油田の夢も	Jul.24, 2001
日本海新聞	油田つくったのは細菌？ 意外な仮説が浮上	Jul.25, 2001
高知新聞	油田作ったのは細菌？ 京大教授らが仮説	Jul.25, 2001
日刊工業新聞	21 世紀の科学技術 ― 京大工学研究科の挑戦 ― 今中教授 超好熱細菌を応用	Jul.17, 2001
読売新聞	CO ₂ から石油を作る細菌 温暖化資源枯渇一挙に解決!? 課題は合成効率と水素	Jul. 4,2001
信濃毎日新聞	極限環境微生物 日光や酸素なしで生きる 生命の歴史探る糸口に	Jul. 4,2001
静岡新聞	別の条件下で石油生成 相良油田の「石油分解菌」人工 的生産の可能性 京大今中教授ら証明	Jan.16,2001
日本経済新聞	自然界に隠された遺伝子情報が石油にとって代わる 新資源争奪戦が始まった 微生物が富を生む	Jan. 3,2001
読売新聞	微生物を生活に応用 地下に眠る未知の可能性 エネルギー源、環境汚染防止 研究開発急ピッチ	Jan.20,2000
日本経済新聞	「地球への処方せん」 環境などに挑む	May 30,2000
日本経済新聞	微生物活用で研究 環境浄化ビジネス 京都府グリーンベンチャー研 京大などと検討	Sep.15 1999
日刊工業新聞	がぜん脚光浴びる始原菌 農業廃棄物の処理 植物改良に役立つ	Apr.6,1999
日刊工業新聞	光合成鍵酵素を持つ超好熱始原菌 CO ₂ の削減に貢献	Apr.6,1999

②受賞

平成 10 年度日本生物工学会論文賞受賞

平成 11 年度日本生物工学会論文賞受賞

平成 13 年度日本生物工学会生物工学賞受賞

平成 13 年度有馬啓記念バイオインダストリー協会賞受賞

(4) その他

我々が開発した耐熱性 DNA polymerase (KOD DNA polymerase) が国内では東洋紡績社、海外では Invitrogen 社や Novagen 社により販売開始となった。また、当研究室が開発した糖質関連酵素が江崎グリコの糖質加工プロセスに実用化された。