日本微生物資源学会

公益財団法人発酵研究所 学会・研究部会助成

公開シンポジウム

「微生物の分離とその利活用 ―食と健康へのアプローチ―」

要旨集

日時：2025 年 9 月 20 日（土）10:50-12:55

開催場所：東京農業大学国際センター 2F 榎本ホール

主催：日本微生物資源学会

協賛：日本微生物資源学会 微生物系統分類部会

後援：東京農業大学総合研究所研究会 応用微生物部会・醸造食品部会

公開シンポジウム

微生物の分離とその利活用
－ 食と健康へのアプローチ －

概要：

人の「食」や「健康」に重要な役割を果たす 1 つが微生物であることは言うまでもありません.「食」では風味や安全性をもたらし,「健康」では栄養供給源になるとともに，体中に形成された微生物叢が健康に影響していることが見いだされてきています．さらに「食」に欠かせない「農業生産」も同じく微生物が大きく関与しています．このように,「食」も「健康」も微生物と微生物さらには微生物と人と相互作用も重要であることが明らかになりつつあり，この相互作用の解明には培養しない手法が活用されています．微生物研究はその「実体」のない新たな知見を社会に還元することも課せられています．そのためにはなんとしても「実体」を入手する必要があります．しかし，よく知られているとおり実際に分離・培養できる「実体」である微生物株はごく一部であり，その獲得にはまだまだ研究しなければなりません.

本シンポジウムでは微生物のもたらす食や健康に関する最新の知見と共に新たな利活用に向けた微生物の分離・培養の取組みについて議論する機会になればと考えております.

日本微生物資源学会第 31 回大会
大会長　田中尚人

公開シンポジウム

微生物の分離とその利活用
－ 食と健康へのアプローチ －

プログラム

S-0 (10:50-10:55)
公開シンポジウムを開催するにあたって
田中尚人 (東京農業大学 生命科学部 分子微生物学科)

S-1 (10:55～11:25)
鈴木 敏弘 (東京農業大学　応用生物科学部　醸造科学科)
「水産発酵食品は新規微生物の分離源になり得るか？～分離微生物資源の利活用に向けて～」　座長：宮下美香

S-2 (11:25～11:55)
中村 慎崇 (国立研究開発法人森林研究・整備機構　森林総合研究所　九州支所森林微生物管理研究グループ)
「国産トリュフ栽培に向けた研究の進捗：遺伝解析が示す交配プロセス」
座長：小林裕樹

S-3 (11:55～12:25)
野中 健一 (帝京科学大学 生命環境学部 生命科学科)
「ナノ・マイクロ素材を用いた寄生性菌類分離培地の開発」
座長：橋本陽

S-4 (12:25～12:55)
久富 敦 (理化学研究所　バイオリソース研究センター　微生物材料開発室)
「難培養性腸内細菌の分離戦略とその利活用の可能性」
座長：田中尚人

S-1

水産発酵食品は新規微生物の分離源になり得るか？
～分離微生物資源の利活用に向けて～

鈴木敏弘
東京農業大学 応用生物科学部 醸造科学科

Fermented fish products as potential sources of novel microorganisms: Implications for the utilization of microbial resources

Toshihiro Suzuki
Department of Fermentation Science, Faculty of Applied Biosciences,
Tokyo University of Agriculture

微生物の利活用において最も重要なのは，目的微生物の分離源の適切な選定と効率的な単離技術である．地球上の微生物のうち培養可能なものは1%以下とされ，利用される微生物資源は限られているため，新規微生物の探索は依然重要な研究課題である．産業微生物の代表である放線菌は，抗生物質や免疫抑制剤，抗ウイルス剤など多様な有用物質の生産能力に優れ，創薬ツールとして期待されている．従来は陸生環境からの分離が中心であったが，多様性に限界があり，新たな分離源の開拓が求められている．近年，海洋環境由来の放線菌が新規代謝産物を生産する資源として注目されている．海洋環境は陸上とは異なる物理的・化学的条件を持ち，そこで得られる微生物は独自の代謝経路やユニークな化合物を生産すると考えられている．そこで我々は，新規海洋由来放線菌の分離源として水産発酵食品に着目した．特に，伊豆諸島伝統水産発酵食品「くさや」の製造に用いられる「くさや汁」は，長期間の使用により海洋由来成分が高濃度に濃縮された擬似的海水環境を形成し，微生物由来の抗生物質成分も含まれることが示唆されている．このため，「くさや汁」は新規抗生物質生産放線菌の分離源として有望と考えた．

実際に「くさや汁」から放線菌を分離したところ，複数の抗生物質生産菌を得ることに成功した．そのうち数株は分子系統解析により既存の放線菌とは系統的に異なる新種であることが明らかとなった．また，これらの新規株は塩分に感受性を示し，生育や二次代謝産物の生産に特異な生理学的特徴を持っていた．本研究は発酵食品を微生物の新規分離源として活用する新たな試みであり，微生物資源の多様化と活用拡大に向けた革新的アプローチである．今後も発酵食品をはじめ多様な環境からの微生物分離研究が，医薬品や農業，環境分野など幅広い産業応用に貢献することが期待される．

本シンポジウムでは，水産発酵食品「くさや」をモデルケースに新規放線菌の分離や特徴を紹介し，放線菌以外に分離された微生物の発酵産業への応用事例も議論する予定である．

S-2

国産トリュフ栽培に向けた研究の進捗：遺伝解析が示す交配プロセス

中村慎崇
国立研究開発法人森林研究・整備機構　森林総合研究所　九州支所

Advances in research on Japanese truffle cultivation: elucidation of the mating process through genetic analysis

Noritaka Nakamura
Kyushu Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, Forest Research and Management Organization

トリュフは，狭義にはセイヨウショウロ属（*Tuber*）菌によって形成される地下生の子実体であり，高級食材として知られているものも多い．本属菌は外生菌根菌であり，栽培には接種苗木の植栽ののち子実体発生を待つことが基本であり，収穫まで通常 7〜8 年を要する．本属菌は本邦では 1976 年に初報告され，現在では 20 種以上が存在すると考えられている．その中でも黒色のアジアクロセイヨウショウロ（*Tuber himalayense*）および白色のホンセイヨウショウロ（*T. japonicum*）は有望な国産食資源として，2015 年より森林総合研究所を中心に栽培化研究が進められている．これまでの調査により，ホンセイヨウショウロは比較的低 pH・低養分環境，アジアクロセイヨウショウロは高 pH・高養分環境で発生し，菌糸伸長条件も種間で異なることが分かっている．

トリュフの安定かつ効率的な生産には子実体形成の交配プロセス解明が不可欠である．既存の研究からセイヨウショウロ属菌の菌根を構成する菌糸は通常単数体であり，子実体形成には異なる二種類の交配型を持つ菌体間の交配が必要であると考えられている．二種類のうち，子実体組織の大部分を構成する“母親（maternal individuals）”の菌体は近隣の菌根に由来すると考えられているが，母親と共に子嚢胞子の形成に遺伝的に関与する“父親（paternal individuals）”の菌体の由来は未解明である．先行研究から母親となる交配型の空間分布は偏りがあることが知られており，父親が菌根以外の形でジェネット外から侵入することが示唆されている．実際にアジアクロセイヨウショウロの自然発生地では交配型に空間的偏りが見られ，先行研究と一致する結果となった．また，母親は 7 年以上の長期間にわたって子実体形成に関与することが示された．

ホンセイヨウショウロでは 2022 年に 4 か所の試験地のうち 2 か所で初めて子実体発生を確認した．発生した子実体の遺伝解析の結果，少なくとも発生初年には接種した菌体間で交配が完結し，時に隣接して定着した菌体間で互いを交配相手として子実体発生に至っており，このことは先行研究と異なり菌糸体間または菌糸体―分生子間の交配を示唆した．

S-3

ナノ・マイクロ素材を用いた寄生性菌類分離培地の開発

野中健一
帝京科学大学 生命環境部

Development of novel fungal isolation media using nano- and micro-materials

Kenichi Nonaka
Faculty of Life & Environmental Sciences, Teikyo University of Sciences

昆虫寄生菌の一種である *Beauveria bassiana* は宿主に感染する過程において,宿主の神経に作用する毒性物質を生産している事が解明された (Sandhu et al. *J. Pathog.* 2012). この様な物質は害虫駆除剤（農薬）に応用出来る可能性を秘めており, 本種の寄生菌は植物病原性がないため安全な農薬への展開が期待される.

そのため, 天然由来の化学農薬の探索源や微生物農薬の開発において昆虫寄生菌類が注目を集めている. また, 線虫や菌類による被害も深刻であるため, 線虫寄生菌類や菌寄生菌類も昆虫寄生菌類と同様に有用なリソースとなる.

しかし, 野外に発生した前述の寄生菌類を探すのは容易でなく, 出現時期や場所も限定的である. 寄生ステージでない時期は通常土壌中に生息しているが, これら寄生菌類のみを選択的に土壌から分離する方法は未だ確立されていない. そのため, 分離培地上に出現した多種多様な菌類から絞り込まなくてはならず, 膨大な時間と費用を要する. そこで, これらの問題を打破する寄生菌類選択分離法の検討を行った.

演者は寄生菌類が宿主を『認識』または『付着』, および『分解』するシステムを分離培地上で再現する事で, より選択性が高い寄生菌類分離法の開発が可能と考えた. 初期検討として昆虫寄生菌類, 線虫寄生菌類および菌寄生菌類が宿主に寄生する際に, 昆虫の表皮, 線虫の卵および菌類の細胞壁の共通構成成分の１つであるキチンを『分解』するためにキチナーゼを分泌することに着目し, キチン素材を含む培地の開発に取り組んだ. これまでのキチン培地はキチン粉末が利用されていたが, 本粉末は沈殿し易く, ハローの確認がしにくい難点がある. そこで演者は, 繊維状新規素材であるキチンナノファイバーを低濃度寒天で固めた分離培地の開発を進めることで, 均一な培地の作製に成功し, キチン分解菌周辺のハローの確認がより容易になった.

さらに本培地を発展させ, 昆虫寄生菌に特化した選択分離法の検討を行った. 本検討では, 前述の『分解』システムに加え、『認識』または『付着』のシステムを付与するためにマイクロカプセルで疑似昆虫を作製した. 擬似昆虫は重合可能な昆虫表皮成分でカプセル部を作成し、カプセル内に昆虫寄生菌類の生育に必要な栄養成分を内包し, 固形培地に添加した. 現在までに疑似昆虫の構成成分, 添加方法などについて条件検討を重ね, 寄生菌類の分離率向上に成功した.

S-4

難培養性腸内細菌の分離戦略とその利活用の可能性

久富敦
国立研究開発法人理化学研究所バイオリソース研究センター微生物材料開発室

Isolation strategies for difficult-to-culture gut bacteria and their potential uses

Atsushi Hisatomi
Microbe Division/Japan Collection of Microorganisms
RIKEN BioResource Research Center

ヒト腸内細菌は生理機能の調節やさまざまな疾患に関与することから，医薬品開発をはじめとする多くの産業分野で注目を集めている．近年，ショットガンメタゲノム解析によってヒト腸内細菌を網羅的に解析することが可能となり，有用なゲノムを持つ細菌の発見が急速に進んでいる．一方で，これらの有用な細菌種の産業開発には「生きた微生物株」を扱うための培養が必要不可欠となる．我々は，基礎研究から応用研究，産業利用に貢献するため，多種多様なヒト腸内細菌の分離・培養を試みている．

最も基本的な分離法の一つに，希釈した試料を寒天培地に接種して培養する手法がある．この方法では多様なコロニーが形成されるため，コロニーの色や形状などの違いをもとに選別することで，さまざまな細菌種を分離することが可能である．一方で，使用する試料にもよるが，この方法で得られる分離株の多くは培養が比較的容易な既知種であり，その性質や有用性についてはすでに研究が進んでいる場合が多い．そこで，産業開発が期待される分類群に属する難培養性細菌や新種の分離を目指し，新たな分離手法の開発に取り組んでいる．

難培養性細菌や新種の分離手法の一つとして，共培養が挙げられる．複数の細菌種が培地成分を資化し，代謝産物を供給することにより，従来の培地では生育しない特定の細菌種の生育が期待できる．これまでにも，共培養法によってさまざまな新菌種や難培養微生物が分離されているが，液体培地を用いた共培養法を分離に応用した例はない．

我々は，代謝産物のみが通過可能なフィルターを挟んだ，「液液共培養器」を用いた分離を試みた．共培養器の一方に生育支持菌として便希釈液を接種し，もう一方にはフィルターで濾過した極小サイズの未知細菌種を接種した．支持菌が産生する代謝産物によって未知細菌の生育が促進され，分離可能となることが期待される培養を実施した．

本手法の結果，健康効果が期待される *Lachnospiraceae* に属する難培養性細菌種や新種が特異的に分離された．よって，本法は産業利用の観点からも有用な分離手法であると考えられる．興味深いことに，分離された細菌種に対して共培養の上清液のみを添加した培養では，生育が認められなかった．よって，液液共培

養のように代謝産物が連続的に供給される環境が当該細菌の生育に必要であることが示唆された．また，本法で分離された難培養性細菌の生育を支える生育支持菌や代謝産物を調査した．本発表では，液液共培養によって培養液がどのように変化するかを提示するとともに，産業への活用について意見を交えたい．

加えて我々は，休眠状態にある芽胞細胞の発芽を誘導する培養法を実施した．芽胞は，ストレス耐性が極めて高い休眠状態であり，発芽が難しく，胆汁酸などの発芽誘導因子により生育が開始する．このため，芽胞形成性の難培養・新種細菌種の存在が示唆されており，ストレス耐性を持つ芽胞状態と効能を発揮する発芽状態を利用した，生菌製剤としての活用が期待されている．

これまでにも，胆汁酸を用いた発芽誘導により多種多様なヒト腸内細菌が分離されており，本手法では基本的に既知種が分離される．そこで，胆汁酸に加え，さまざまな発芽誘導物質を添加することで，難培養性や新種の芽胞細菌の発芽を試みた．さらに，便希釈液の培養上清液を芽胞細胞に添加することで発芽を促す新たな手法も併用した．

その結果，健康効果が期待されている細菌群である *Oscillospiraceae* や *Lachnospiraceae* に属する細菌種を多数分離することに成功した．また，新種候補株の分離数は最多であった *Clostridium* 属に次いで多かった．さらに，便希釈液の培養上清液を添加する手法により，最も多くの新種株が分離された．興味深いことに，異なる便由来の培養上清液を添加することで，発芽・分離される芽胞形成細菌種が変化することも確認された．このことは，腸内環境の改善を目的とした糞便移植（FMT）において移植元便の選定指標としての応用可能性を示唆している．

以上のように，共培養および芽胞の発芽誘導法を活用することで，これまで分離が困難であった難培養微生物や新種株の分離に成功した．特に，この 2 つの手法に共通する「代謝産物を利用した培養環境」では，健康効果が期待される細菌群や新種株を多数分離することができた．

従来の固定的な培地では，こうした微生物の分離は困難であり，培地環境が動的に変化する共培養的手法が，生育に適した条件を提供している可能性が高いと考えられる．さらに，これらの代謝産物のメタボローム解析や微生物応答のトランスクリプトーム解析を行うことで，難培養微生物の生育機構や共生のメカニズム解明に寄与することが期待される．

今後，これらの取り組みを通じて，新種や難培養性細菌の産業開発に向けた利活用がさらに進展すると考えられる．本発表では，ヒト腸内細菌の分離手法に焦点を当て，その利活用について議論したい．