

日本生物工学会共催シンポジウム 「これからの微生物資源：秘められた可能性」報告

日本生物工学会第58回大会が平成18年9月11-13日に大阪大学豊中キャンパスで開催された。その中で、JSCCは、「これからの微生物資源：秘められた可能性」というテーマでシンポジウムを共催し（9月13日開催）、微生物遺伝資源の開発と利用を中心にBRCの役割と連携の必要性について話題を提供した。応用微生物学分野の研究者の多い学会との共催ということで、このテーマを設定した趣旨は以下のとおりである。

カルチャーコレクションは、分類学的基準株、検定・品質管理用の株、論文で使われた株などを提供し、基礎応用の両面で微生物学を支えてきた。特殊環境微生物の可培養化技術、分子生物学的手法による検出技術、環境遺伝子の直接取得などは、利用可能な新規微生物資源の拡大の可能性を示している。また、スクリーニング技術、バイオインフォマティクスは必要とする遺伝子資源の探索の最適化、効率化に貢献している。培養可能な微生物は全体の一握りに過ぎないことから、新規微生物資源を探索し、充実させる余地は十分にある。そして、その利用が促進されることでさらに新規微生物へのニーズが高まるという相乗効果が期待される。生物遺伝資源センター（BRC）は、広く生物資源の積極的な利用環境を整備するためにOECDで提言された構想に基づいている。微生物については、カルチャーコレクションが発展的にBRCとなって、新規微生物の探索と有用機能開発の接点となることが求められている。本シンポジウムでは多様な微生物資源の取得と保存、そしてその利用に関する最近のトピックスを紹介し、今後魅力的な微生物資源の利用を推進していくためにBRCにはなにが必要かを考える場にした。

各講師のご講演の内容については、日本生物工学会の承諾を得て次ページ以降に講演要旨を転載させていただいているのでそれを参照いただきたい。

学会最終日の午後にもかかわらず、大会実行委員会の調査による本シンポジウムにはピーク時で190人の公式入場者数があり、多くの人たちに立って聴講していただくことになり、うれしい悲鳴を上げることとなった。やはり日本生物工学会では研究材料の主体は微生物であり、BRCの役割を活用した微生物資源の探索と利用には、大いに期待できることを痛感した。また、微生物資源の利用には未利用資源の潜在能力をどのように評価し、資源の開発者と利用者を橋渡しするかがBRCにとってポイントとなる。その観点から異色ではあるが、微生物資源の経済的価値を経済学者の視点から論じてもらった。これは、公的予算の獲得、企業内での課題の評価などにおいて、利用してもらえるデータではないかと考えている。JSCCとしてはこれから積極的に微生物資源に関するシンポジウムを他の学会と共催で実施し、いろいろな分野の微生物学者にBRCの機能を積極的に利用してもらう機会を知ってもらおうようにしていきたい。会員各位にはJSCCの関わるシンポジウムの実施形態、テーマなどについてご提案を是非事務局までお寄せいただきたい。最後になるが、それぞれの視点から興味深い話題をご提供いただいた講演者の方々に厚く御礼申し上げますとともに、JSCCの企画を採択していただき、開催にご支援いただいた関達治実行委員長をはじめとする日本生物工学会関西支部の委員の方々に感謝する次第である。

（オーガナイザー 辨野義己、鈴木健一郎）

講演要旨（許可を得て、日本生物工学会第58回大会要旨集より転載）

1. 生物資源センターに求められる役割

鈴木健一郎（製品評価技術基盤機構・NBRC）

研究用微生物株の公的な保存・提供の場として、カルチャーコレクション（CC）は微生物学の基礎応用の両面で重要な役割を果たしてきた。日本薬局方、防菌防黴試験などの検定・品質管理用にはCCの特定の株が指定されている。論文受理の条件として、研究で使われた株を公的CCに寄託することを求められるケースが増加している。さらに、新種を発表する際の分類学的基準株は、国際細菌命名規約により異なる国の2カ所以上のCCに寄託することになっている。微生物の研究において、生きた培養物が入手できることは、標準化や再現性、研究の継続的な発展のための不可欠の基盤であることは間違いない。しかし、たとえば細菌、アーキアでは年々新種の増加が加速度的で、1年間に300種以上が発表されており、これは全種数の5%以上に相当する。最近では特に特殊環境から分離されるなど、培養がむずかしいものが増えており、CCに対し高度な微生物の培養技術、分類・識別技術への要求が急激に高まっている。

それでも人類によって培養された微生物は全体の1%以下ともいわれており、バイオテクノロジーの材料として未知微生物資源に期待するところは大きい。そこで今まで試みられていない分離源の取得、難培養微生物の可培養化、あるいは自然環境からの遺伝子の直接取得など、新しい微生物資源の開発が盛んになっている。また、多くの微生物の全ゲノムが解析され、ゲノム情報を活用するバイオフィーマティクスが分子生物学の基盤となっている現在、生物材料はこれらの膨大な情報に対応した高品質なものではなければならない。そこで、多くの研究者の連携の枠組み、情報交換、資源利用の効率化など、それらの利用を促進するためのインフラ整備の必要性も認識されている。さらに、最近は研究者も例外ではなく社会的インフラ、すなわち、生物多様性条約をはじめとする生物遺伝資源を管理する国際、および国内法による規制、あるいは研究成果の利用に関する知財権に対しても適切な対応が求められている。

2001年にOECDは、生物資源センター(Biological Resource Center, BRC)は生命科学とバイオテクノロジーを支える重要な基盤であると報告した¹⁾。以来BRCのありかたについて議論が続けられている。BRCは単に標本の保管庫という純粋に学術的な機能だけではなく、応用研究や産業におけるニーズを考慮した収集と、利用条件を明確にした提供によって微生物の研究・産業利用の促進に貢献しなければならない。現在日本では、CCは一般コレクションと専門コレクションの2極化に進んでいるといえる。日本微生物資源学会(Japan Society for Culture Collections, JSCC)²⁾には25のコレクションが登録されており、微生物系統保存事業において情報交換を行っている。各機関が特徴を生かした事業展開を行い、同時に日本全体で多くの多様な微生物資源が利用できる環境となるように調整をはかっている。国内の保存機関の統合カタログの作成などはその一例である。

この日本生物工学会とJSCCの共催シンポジウムの機会に、みなさまには国内の微生物BRCを積極的に支援していただき、BRCが材料と情報を集約した研究コミュニティの中核として機能するようにご支援下さることをお願いする次第である。

引用文献

- 1) OECD (2001) : Biological Resource Centres underpinning the future of life sciences and biotechnology. (<http://www.oecd.org/dataoecd/55/48/2487422.pdf>)
- 2) 日本微生物資源学会ホームページ : <http://www.jscc-home.jp/index.php>

2. '培養できない'微生物を培養する：難培養性微生物のための培養技術の開発とその適用例

関口勇地(産業技術総合研究所・生物機能工学研究部門・生物資源情報基盤研究グループ)

自然環境には至る所に微生物が息しており、地球規模での物質循環に大きく寄与している。バクテリアおよびアーキアにより構成される原核微生物の地球上での存在量は、炭素ベースで地球上の植物の総炭素量と匹敵すると言われており、そのマスとしての存在量は極めて多い。また、その中には遺伝的にも機能的にも多様な微生物が存在している。しかしながら、現在のところそのような環境微生物の大部分は通常の方法では培養ができず、未だその機能は未知なままである。この事実は、我々の身近な環境に未だ解明されていない広大なフロンティアと豊富な生物・遺伝子資源が横たわっていることを意味している。現在まで純粋分離され記載された原核生物は、わずか6,000種程度に過ぎないが、その記載が急速に進展しない原因の一つは、これら培養困難な微生物の分離培養が大きなボトルネックになっていることにある。この培養困難な微生物(難培養性微生物)の問題を回避するため、メタゲノム解析などの培養を経ない方法による直接的な未利用遺伝子資源へのアクセス技術の開発も進展している。その一方で、これらの難培養性微生物をさまざまな方法で直接培養・分離し、その記載と保存を進めていこうと目論んだ研究も展開されている。我々の研究グループでは、さまざまな環境中で存在が確認されているが培養ができず機能未知である微生物の遺伝学的同定とその培養の試み、およびその培養のための培養手法の改良や新しい培養技術の開発を進めてきた。特に嫌気的環境下で生育する微生物に焦点を当て、その培養を試みてきた。さまざまな嫌気的環境で、16S rRNA 遺伝子として検出されるが培養できていない門、あるいは亜門レベルの微生物系統群(クローンクラスター)が多数知られているが、これらの環境に存在する嫌気性微生物群を培養するには、嫌気的な環境を再現するための培養技術を駆使すると共に、さらなる工夫が必要となる。我々の研究グループでは、その培養の試みの過程で、(1)rRNAアプローチによる標的微生物のトレース、(2) rRNAアプローチによる最良の植種源の選択、(3) 共生培養系を利用した標的微生物の集積、という三つの手法を微生物培養に積極的に活用することで、さまざまな種類の難培養性微生物を現在の培養技術でも十分培養できることを確認してきた。例えば、このような方法を活用することで、亜門レベル、目レベル、あるいは科レベルのクローンクラスターに属する新規なバクテリアやアーキアを分離した。その過程で、標的微生物を多く含む植種源を確保することが培養において極めて重要であることがはっきりしてきたため、rRNAアプローチとコンビナトリアルバイオエンジニアリング手法を活用し、特定のペプチド鎖を利用することで、標的とする未培養微生物を生きたまま選択的に回収し、その回収菌体をもとに培養する新しい技術を開発している。この方法によって、モデル難培養性微生物を生きたまま高純度で回収できることが分かってきた。しかしながら、いくら良い植種源を特定できたとしても、どうやっても現在の培養技術では培養できない例も報告されている。我々が対象としている嫌気性微生物でも、豊富な植種源が確保されており、MAR-FISHなどの方法でその基質利用性が推定されているにもかかわらず、上記の手法を活用しても培養できない例もある。本講演では、難培養性微生物を培養するための方法論や技術開発の進展に関して、我々の研究グループの例および世界での成功例を詳細に紹介するとともに、それらの方法論の射程外だと思われる微生物の例や、現在微生物培養においてさらに必要とされる技術的課題を概説する。

3. 地下生命圏からの微生物ハンティング—培養からメタゲノムまで—

布浦拓郎（海洋研究開発機構・極限環境生物圏研究センター・地殻内微生物研究領域）

地下生命圏は全地球の微生物バイオマスの90%以上が存在すると推測されている微生物資源の宝庫であるが、その多くを占める海洋底深部堆積物中に生息する微生物は非常に代謝活性が低いことも明らかになりつつある。我々の研究グループでは、海洋底深部堆積物の他、深海底熱水活動域、冷湧水帯や陸上地下鉱山などの活発な微生物活動が期待される活動的な地下生命圏、あるいはそのアナログ環境の微生物生態について研究を進めている。そして、これまでに熱水活動域や地下鉱山熱水系においては、未培養であった系統群に属する主要な構成種の多くを培養することに成功するなど大きな成果を上げた。しかし、堆積物中に生息する系統群については、微生物活動の低調な深部のみならず、熱水活動域、冷湧水帯等の活発な微生物活動の観察される表層においてさえ、多くの場合、培養の手がかりすら掴めないのが現状である。

つまり、地下生命圏を明らかにし、また、遺伝子資源として利用するためには新たな方法論が必要であり、その一つの手段としてメタゲノミクス（環境ゲノミクス）が注目されている。DeLongらに始まり Venterらの成果により一躍世間の注目を集めるメタゲノミクスは、培養を経ずに自然環境の遺伝子群を網羅的に解析し得る強力な方法論である。しかし、ヘテロな集団からの遺伝子の検索、相同性解析に依存する解析など、既知の系統群とは隔たった未培養系統群の解析には様々な問題点を抱えていることも事実であり、課題も多い。

今回の講演では、地下生命圏研究の現状と共に、今後の微生物生態研究及び遺伝子資源利用の重要な方法論であるメタゲノミクスの現状と展望について、我々の研究成果を交え、議論したい。

4. 微生物資源からの有用機能開発

木野邦器（早稲田大学・理工学部・応用化学科）

持続型社会の実現がこの21世紀に課せられた重要課題であるが、地球環境を維持しつつ、人類の持続的な発展を実現するための生産システムを目指すバイオプロセスに大きな期待が寄せられている。安価な原料からの高付加価値製品創出を可能にするバイオプロセスは、生物の多様性に基づく多種多様な機能を活用する物質変換プロセス（バイオコンバージョン）であり、生物機能の多様性にあわせてそのプロセスならびに生産物も多様化してきた。とくに微生物機能を利用した工業プロセスは、遺伝子組換え技術やバイオリクター開発の進展もあり、従来の発酵・醸造で培われてきた技術を基盤としながら大きく展開してきた。

微生物は、この地球上に原始生命体が誕生した約35億年前からそれぞれの環境に適応しながら進化・多様化してきた。微生物の営みは生育環境に適応するだけでなく、地球環境の形成にも大きく関わり、我々人類を含む全ての生物の営みに影響を与えている。新しい有用な微生物機能を求めて広く自然界からのスクリーニングが実施されてきたが、地球上に存在する微生物の99%以上が培養困難または培養不能な未知の新規かつ多様な微生物から成り立っていると考えられており、近年、これら難培養微生物を対象としたハンドリング技術の確立や、有用酵素や生理活性物質などの探索研究が検討されている。その一環として環境中より目的酵素遺伝子を直接取得するメタゲノムと呼ばれる研究も盛んに実施されるようになってきた。メタゲノム研究はタンパク質やゲノム解析研究の成果に基づくものであるが、タンパク質機能との関連性を明らかにするゲノム情報は、有用遺伝子の探索や微生物ゲノムからのクローニングにも効果的に活用されている。

自然界に生息する多種多様な微生物は、共生や寄生など他の生物群との関係も含め、多様かつ複雑な生物間相互作用を介して自己生存戦略を練り広げている。この生物複雑系を分子のレベルで理解し、それを高度に制御・利用することは、微生物から多大な恩恵を受けている我々として今後果たすべき課題であり、微生物機能の高度利用による有用物質生産プロセスや環境改善技術の開発は、今まさに求められているものである。

微生物の生産する抗生物質など生理活性物質の構造や活性は微生物の多様性を反映してきわめて多種多様で、創薬研究におけるリード化合物として重要な資源となっている。ケミカルバイオロジーが注目されている現在、新たな天然物化合物探索へ大きな期待が寄せられている。また、最新型質量分析器の利用によるメタボローム研究も積極的に進められており、多様な微生物機能を探索・開発していく上で、微生物代謝のダイナミクスを解析・理解することはきわめて重要であり、それを踏まえた有用物質生産プロセスの開発は我が国の強みを十分に活かせる領域であり、革新的バイオ産業の創出を可能にするものと期待している。

本発表では、持続型社会実現に向けて実施されている各種バイオプロセス開発研究に関して、それを取り巻く上記現状を背景にして実施している最近の我々の研究例を中心に紹介する。とくに微生物の多様性に基づく有用酵素の探索や、ゲノム情報を活用した目的酵素遺伝子のクローニング、遺伝子改変による有用酵素の創製などについてふれる。

5. 新規有用酵母の分離とその機能の環境保全、産業への利用

家藤治幸（酒類総合研究所・醸造技術応用研究部門）

酵母は、酒類製造、製パン、醤油製造など大きな産業を担うと同時に、真核生物のモデルとして分子生物学研究に広く利用されている。しかしそれらには *Saccharomyces cerevisiae* やその他ごく一部の酵母が使用されているに過ぎない。“YEASTS: Characteristics and Identification 3版”では678の酵母種が掲名されており、現在その数はさらに多くなっているが、大部分の酵母はほとんど注目もされていないのが実状である。しかし、これらの中には産業などに有用である酵母も多数存在するはずである。酒総研（前身、国税庁醸造研究所）では、酵母を使用した排水処理システムを世界に先立ち開発している。そして、筆者らは自然界より有用な性質を持つ酵母を分離し、その機能を環境保全や産業に利用することを試みている。本講演では、

その中のいくつかの研究を紹介する。

1) 酵母による排水処理

酵母にはでんぷんやタンパク、油脂などを分解資化する能力を持ったものが存在する。酒総研では *Hansenula (Pichia)* 系酵母を主に使用する排水処理法を開発している。これら酵母による排水処理は、他の微生物処理法では処理の難しい塩分高含量排水や油分高含量排水の処理に特に有効である。

2) セルロース凝集性酵母の分離

セルロース繊維を顕著に凝集させる能力を持った酵母を自然界より分離した。本酵母は *Geotrichum* に属する酵母であると同定された。本菌は芋焼酎蒸留排液中の固形物や、野菜ジュース中の固形物などのセルロース系固形物に吸着し、強い凝集促進性を示す酵母である。植物繊維固形物の微生物凝集剤としての利用などが期待される。

3) 酵母の生産する油脂分解酵素の性質とその利用

難分解性多糖類の分解酵素を生産分泌する酵母を自然界より分離した。本菌は担子菌系酵母 *Cryptococcus* 属に属する酵母であると同定された。生デンプン分解能力を持つ α -アミラーゼや、耐酸性のキシラナーゼ、耐熱性のセルラーゼなどさまざまな特徴的な酵素を分泌する。本菌はさらにリパーゼの一種であるクチナーゼ類似酵素を生産する。本酵素は耐有機溶媒性の強い酵素であり、また水分が多く存在する条件においても油脂加水分解の逆反応であるエステル合成反応が強いという特徴的な性質を有していた。本酵素を利用することで簡単なステップで脂肪酸メチルエステルの生産ができることが示された。なお、脂肪酸メチルエステルは、再生産可能な原料・植物油やその廃油などから作られるクリーンなバイオディーゼル燃料として今後の利用が注目されているものである。

さらに本酵素は、ポリ乳酸をはじめとする各種バイオプラスチックを効率よく分解することのできる酵素であることも明らかとなった。ポリ乳酸は乳酸をポリマー化した生物由来のプラスチックで、今後その大幅な生産、利用拡大が見込まれているが、それを有効に分解する酵素はほとんど知られていなかった。蛋白質分解酵素である Proteinase K がポリ乳酸を分解するとして報告されているが、我々の酵素は Proteinase K の少なくとも 500 倍以上の分解活性を示すものであった。本酵素のバイオプラスチックの効率的分解、再資源化などへの利用が期待されている。

なお我々は、本菌による宿主ベクター系、異種タンパク発現系の構築も行っている。

酵母は培養などに取り扱いの容易な微生物である。今日、食品産業などに多大な貢献をしているが、まだ我々がその能力を知らない有用な酵母も多く存在するはずである。そのような酵母を見出し、有用な遺伝子資源としていくことも、酵母を研究する者として魅力ある仕事である。

6. 微生物資源ユーザーによる CC の価値—経済学的視点から

渡辺幹彦（日本総合研究所）

1 環境/自然資源の価値評価の考え方

経済学の分野において、意志決定での必要性から、近年、環境/自然資源を貨幣評価する手法が発達した。環境/自然資源が有し、貨幣評価の対象となる価値は、利用価値、非利用価値、オプション価値に大別される。主として、利用価値は代替市場法によって、非利用価値は表明/顕示選好法によって、オプション価値はこれらの手法の組み合わせによって、経済評価がなされる。

2 生物遺伝資源の経済価値評価の先行研究

生物遺伝資源を意識した代表的な先行研究に、Kate and Laird (1999) (評価対象を biodiversity とし、最小値 5,000 ~ 最大値 8,000 億ドル/年/全世界)、Pearce and Puroshothaman (1995) (評価対象を medicinal plants とし、\$ 0.01 ~ \$ 21/年間/世界の熱帯雨林 1 ha)、Rausser and Small (2000) (評価対象を Hot Spot 地域の固有種・遺伝資源とし、最少 \$ 0/1 ha ~ 最大 \$ 9,177/1 ha) などがある。どれも、評価の研究段階を進めたものの、医薬品開発などの成功確率を一定とするなど、受容できない点がある。

3 NITE が委託調査にて実施した CC の菌株に関する経済価値評価 (注)

コンジョイント法を用いて、ユーザーによる NITE 菌株に対する支払意志額の調査が実施された。完全評定型と選択型の 2 つが同時に実施され、約 200 の回答が得られた。結果として、「標準的な株」に対する支払意志額が、155,700 円 (完全評定型)・47,900 円 (選択型) であった。支払意志額が最も高かったのは、完全評定型では、「代謝産物が既知である株」・212,500 円であり、選択型では、「特許取得済で利用制限が許容範囲なもの」・111,600 円であった。未同定なものは、支払意志額が負の値をとった。同定するという作業に対しては、188,500 円 (完全評定型)、110,400 円 (選択型) という支払意志額が示された。この結果を解釈する上で、ここでの経済評価/支払意志額が「微生物資源全般」に対するものではなく、「CC」に対するものであることに、注意が必要である。

(注) ここでの記述は、特に断りのない限り、独立行政法人製品評価技術基盤機構 (NITE) が、株式会社日本総合研究所に委託して実施した「微生物資源の経済価値に関する調査」の内容による。

- 1) Kate, K.T. and Laird, S.A. eds. (1999) *The Commercial Use of Biodiversity - Access to Genetic Resources and Benefit-Sharing -*, Earthscan
- 2) Pearce, D. and Puroshothaman, S. (1995) "The Economic Value of Plant-Based Pharmaceuticals", in Swanson, T.M. ed. *Intellectual Property Rights and Biodiversity Conservation - An Interdisciplinary Analysis of the Value of Medicinal Plants*, pp. 127-138, Cambridge University Press
- 3) Rausser, G.C. and Small, A.A. (2000) "Valuing Research Leads: Bioprospecting and the Conservation of Genetic Resources", *Journal of Political Economy*, Vol. 108, No. 1, pp. 173-206