

教育講演

微生物学を網羅的に教育する組織の構築に向けて—岐阜大学の取り組み

高見澤一裕

岐阜大学応用生物科学部

岐阜大学は教育学部、地域学部、医学部、工学部そして応用生物科学部の5学部からなり、すべての学部で微生物学に関する講義科目があります。微生物学の専門家は、ウイルス、病原微生物、植物病、応用微生物、微生物分類学、微生物生態学、環境微生物学、食品微生物学、工業微生物学など39名在籍しています。また、総合科学技術会議資料に基づきますと、岐阜大学では微生物学のみがISI分野別論文数で全国の上位11番以内に安定して入っております（その他の領域ではだいたい20位前後です）。そこで、この人的資源と実績を生かして日本初の微生物学を網羅的に教育する組織の構築を考えています。2004年度の学長裁量経費による岐阜大学活性化経費（教育）「大学院修

士課程 微生物学専修コース設立プロジェクト（案）」で、微生物学関係者の相互理解を深めました。そして、2009年7月には、岐阜シンポジウム「微生物—21世紀の社会と地球を守る立役者」を行い、400名以上の参加者を集め高い関心を呼び、微生物の役割を大いに宣伝できました。アンケート調査では多数の方から微生物学を網羅的に教育する組織の構築に賛同を得て自信を深めました。中央教育審議会では「学位プログラム」について議論されていると聞き及んでおります。全国に先駆けて微生物学を網羅的に教育する修士課程の構築から始めることが現実的であると考えております。

受賞講演

日本微生物資源学会学会賞

アーキア及び関連細菌のコレクション事業とリソース開発

伊藤 隆

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室

私は1992年にアーキア（古細菌, Archaea）のコレクション事業を担当する職員として理化学研究所微生物系統保存施設（現在はバイオリソースセンター微生物材料開発室：以下JCM）に着任いたしました。アーキアは一般の細菌や真核生物とも系統学的に異なる第三の生物として提唱され、メタン生成アーキア、高度好塩性アーキア、超好熱性アーキアなど一風変わった微生物群が含まれています。1977年にC.R. Woeseによって提唱されて以来（発見当初はArchaeobacteria）、その研究や探索が活発になり、種の数も年々増え続けてきました。私がJCMに着任した頃は、日本のカルチャーコレクションには僅かばかりの高度好塩性アーキアや好気性の好熱性アーキアがIFO, IAMそしてJCMに保有されているに過ぎませんでした。そこでJCMをアーキアを取り扱う世界有数のコレクションとするべくコレクション事業に取り組みました。一方、アーキア以外の細菌種も私の担当菌株としてコレクションに含める必要性がありました。これらも極限環境由来や難培養性の菌株が増えてユニークなコレクションとなりつつあります。

「コレクション事業の展開」

JCMにおけるアーキアのコレクションは2010年3月末で456株（メタン生成アーキア72株、好塩性アーキア236株、好熱性アーキア148株）となりDSMZに次いで世界2位の規模となりました。さらに関連する細菌株には超好熱性細菌、硫酸還元細菌、鉄酸化細菌、鉄還元細菌、脱ハロゲン化細菌、共生性細菌などユニークな菌株が数多く含まれています。当初、こうした菌株の収集は主にカルチャーコレクション間の交換に頼っていましたが、ここ数年は寄託者からの依頼によるものが多いのが現状です。このようにコレクション事業が展開できたのは、多くのコレクション関係者の協力・支援があったからこそですが、さらにはアーキアや関連細菌を取り扱える設備・技術を確立できたこと、自らリソース開発してきたこと、そして多くのこれらリソースと関連した研究者と知り合えたことが大切であったように思います。ことにアーキアのコレクションを開始した当初は私の周りにはアーキア研究者がほとんどいない状況でしたが、後には日本Archaea研究会の事務局も務めることになり、結果として多くの日本のアーキア研究者と知り合うことができました。また国内外の寄託者や利用者の相談をなるべく丁寧に対応するように努めてきたこともJCMへの寄託や利用を増やす要因になったものと考えています。

「リソース開発」

これまで好熱性アーキア、好塩性アーキアを中心にリソース開発を行ってきました。好熱性アーキア（細菌を含む）は自ら日本やフィリピンの上陸温泉から試料を採取し分離を試みてきました（一部はフィリピンの研究者との共同研究）。分離するための培地は基本的に一種類としましたが温度・pH・気相等の培養条件を変えることによって様々な好熱性アーキア・細菌株を得ることができました。好熱性アーキア分離株は190株以上にも及び、16S rRNA遺伝子解析の結果、少なくとも8新属・16新種が含まれており、これまでに5新属・6新種を論文発表しました。なかでも*Thermoproteaceae*科にはこれまで2属しか記載がありませんでしたが、新たに3属を加えることができました。また未発表ながら*Sulfolobales*目にも新属・新種に相当する分離株があり、これらの系統分類学的研究がこれまで表現性状に強く頼っていた本目の分類体系の再編を引き起こす可能性があります。

一方、好塩性アーキア・細菌のリソース開発は海外の研究者との共同研究によるものが多くなりました。中国の研究者とは中国の塩湖・ソーダ湖由来の分離株、タイの研究者とはタイ発酵食品由来の分離株、オーストラリアの研究者とはオーストラリアの天日塩田由来の分離株、ルーマニア研究者とはルーマニアの塩湖・岩塩鉱床由来の分離株について系統分類学的研究を行い、3新属・15新種を発表することができました。

こうして発表した分離株の一部は新属・新種としての発表だけでなく、好熱性アーキアのrRNAイントロンやホーミングエンドヌクレアーゼに関する研究、分離源の地理学的分布と系統的關係を考察する生物地理学的研究へと発展することができました。さらにリソース開発した菌株のなかにはDOEによってゲノム解析された*Caldivirga maquilensis*があり、さらにいくつかの菌株がゲノム解析中となっています。

以上のようなリソース開発は単にコレクションにオリジナリティのある菌株を加えるだけでなく、自分自身の培養保存技術の技量アップや研究コミュニティにおけるコレクションの印象を強くしたものと確信しています。

JCMに着任してから早18年となりますが、まだまだ未収集となっている菌株も多く、道半ばという気持ちはあります。今後はさらに利用性の高い事業へと発展させる必要もあるでしょう。本講演では、これまでの経緯をふまえてアーキアをはじめとする極限環境微生物や難培養性微生物に関する研究開発を支援していくコレクション事業についても考えてみたいと思います。

シンポジウム

S-1 パーソナル次世代ゲノムシーケンサーの新時代
GS Junior (ゲノムシーケンサー ジュニア) ベンチトップシステム

宋 碩林

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社ゲノムシーケンシング部

GS Junior ベンチトップシステムは、次世代ゲノムシーケンサーの需要の高まりに応じて、当社既存品の次世代ゲノムシーケンサー“GS FLX”のテクノロジーを踏襲し、そのパーソナル化と取扱いの簡便化を実現しました。本システムは、“GS FLX”に比べ本体サイズが大幅に小型化され、機器本体価格が約1/5、ランニングコストが約1/10と大きなコストダウンを実現しました。本システムの専用試薬「GS Junior Titanium (ジーエス ジュニア チタニウム)」を用いることで、僅か10時間のランで平均リード長

400塩基、1稼動あたり約4000万塩基の配列の読み取りが可能です。また、付属のコンピューターシステムと専用解析ソフトウェアにより、得られる大量の塩基配列情報を数時間で迅速に解析します。その実用性は既存品のGS FLXを用いて世界トップ専門科学誌に発表された次世代ゲノムシーケンサー No. 1 の610論文実績で数多くの論文で証明されています。本Symposiumでは「GS Junior ベンチトップシステム」の紹介を中心に、その予定応用例とGS FLXを用いて発表された論文を紹介いたします。

S-2 無償ゲノムアノテーションサービスの現状

○菅原秀明¹, 大山 彰², 森 宙史³, 黒川 顕³

¹ 遺伝研, ² インシリコバイオロジー, ³ 東工大院・生命情報

我々は、ライフサイエンス統合データベースセンターの一課題として、バクテリアまたはアーケアのDNA配列に生物学的意味付けをする Micorbial Genome Annotation Pipeline (MiGAP) を開発し、2008年6月から無償で一般公開した (<http://migap.lifesciencedb.jp/>)。その当時、無償の微生物ゲノムアノテーションサービスが無かった訳ではない。それでは MiGAP の優位性は何か。高性能な ORF 予測プログラム MetaGeneAnnotator を組み込んだことと、ゲノム解析の初心者からエキスパートまで多様な研究者の要望に応えるべく、デフォルト解析の b-MiGAP、プログラムやパラメータの選択が可能な s-MiGAP、ならびに、より自由度が高い g-MiGAP の3種類のモー

ドを用意したことである。これまで主として b-MiGAP を提供してきたが、2010年3月末までの利用実績を見ると、登録利用者数 83 名、実行プロセス数 251 件、投入塩基長合計 250 Mbp、投入コンテイング数合計 38,202 本、ならびに、同定 CDS 数合計 245,047 個に達していた。このため、MiGAP は一定の潜在的需要に応えることができたと判断している。一方で、この間、利用者からは高速化と真核微生物への対応の要望が寄せられていた。高速化については、2010年4月1日からは国立遺伝学研究所のスーパーコンピュータシステムの一部を利用して複数解析の同時実行を実現して、要望に応えた。真核微生物への対応については 2010 年中に実現する予定である。

S-3 分子疫学解析からみた MDR-/XDR-TB の現状と問題点

松本智成

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 感染症センター・臨床研究部

薬剤耐性結核，特に多剤耐性結核（MDR-TB）は治療の失敗により作られているという考え方が主流であった。この考え方は，INH 耐性結核は *katG* 遺伝子変異を持ち結核菌生存に重要なカタラーゼ活性が低下し INH 感受性菌よりも生存に不利であり感染性が低い。したがって INH 耐性を有する MDR-TB はうつりにくいという考えに由来する。

1990 年代にはいり結核菌に分子疫学解析法が利用され，2000 年に簡便で迅速に測定出来る VNTR 法が導入された。

分子疫学解析法により，MDR-TB や超多剤耐性結核（XDR-TB）は主に感染により広がっていることが報告されるようになった。我々は，日本においても MDR-TB，特に XDR-TB は主に感染により広がっていることを明らかにした。

では，INH 耐性を有するのに MDR-/XDR-TB は何故広がるのか？ それは，分子疫学解析にて大きなクラスターをつくる MDR-/XDR-TB はカタラーゼ活性低下をもたらさない INH 耐性変異 *katG* S315T 変異

を有することが多いからである。

WHO の 2008 年の報告によると，MDR-TB による結核感染は世界的に増加しており，初回患者で 3.1%，既治療患者で 19.3% と推定されている。中でも，XDR-TB は世界的な脅威になりつつあり，2007 年までに 47 カ国から報告されている。日本は MDR-TB 中の XDR-TB 率が 30% を超えており，世界で最も MDR-TB 中 XDR-TB 率の高率なグループに属している。すなわち特に日本では XDR-TB は感染により拡大しており MDR-/XDR-TB を感染拡大させない努力が必要になってくる。

MDR-/XDR-TB の感染拡大を防ぐ為には院内感染対策が重要であるが，最近では市中感染例も散見されるようになってきた。MDR-/XDR-TB は国力を低下させる静かな時限地雷であり分子疫学解析による監視，介入が必要である。監視・介入の為には結核菌株もしくは遺伝子の保存体制，ならびに国によるサポート体制構築が重要である。

S-4 全ゲノム解析・多型解析株からみた系統分類の課題とカルチャーコレクションの役割

江崎孝行

岐阜大学・大学院医学系研究科・病原体制御分野

全ゲノム解析が進み、病原微生物では菌種から菌株レベルの解析データが多く集積してきた。一つの菌種で10株から20株ぐらいの全ゲノム情報が蓄積されている菌種が急速に増加している。ゲノム解析が一株10万円前後で解析できる時代が間近に来ているので、今後この一つの菌種内の株の情報は急速に拡大すると予測される。細菌が全ゲノム配列の数千分の1の配列しかない16S rRNA情報で系統的に分類されているのに対し、全ゲノム情報をもたらす情報量は格段に大きい。20年以上のデータの蓄積から、細菌の系統分類に使用しているRNAの情報は系統分類にはきわめて重要であることは認識されてきたが、種の識別には限界があることも明らかになってきた。一方、上位分類に目を向けた場合、属の定義、科の定義として16S rRNA配列情報だけで分類群を識別するのはあまりに

も客観性に乏しい。16S rRNA配列情報と相関する遺伝子、あるいは無関係に全ゲノム情報を使った上位分類の指標を目指して新しい方法を展望をもってチャレンジする時期に来ていると考える。

病原微生物を取り扱っている我々は、菌種の情報より、血清型、病原因子など、種よりさらに細かい情報を分離株に付与し、多型株のコレクションとしての重要性を主張している。一方、上位分類ではゲノムサイズ、機能性遺伝子の多型など、配列ではなく個々の遺伝子の保有の有無で多型を論じることができる。種とはどれだけの遺伝子を共有する株の集団であるか、あるいは属はどれだけの遺伝子を保有する種の集合であるかといった視点が構築されれば、保有遺伝子の種類の違いをもとにした分類基準とコレクションの株の収集の意義が創出されてくる。

一般講演

O-1 糸状菌 NBRC 株のシーケンスによる品質管理と再同定

○伴さやか, 山口 薫, 岡根 泉, 田中敏広, 中桐 昭, 田渕由希子, 元良美和子, 島村具仁子, 鈴木健一朗, 黛 新造, 横山史絵, 安藤勝彦
(独) 製品評価技術基盤機構 (NITE)・NBRC

NBRC では菌株の品質管理と再同定を目的に, 公開している糸状菌全てを対象に ITS ~ rDNA 28S D1/D2 領域のシーケンスを進めており, これまでに多くの菌株について分子系統解析による種名の確認及び変更, シーケンス情報の公開を行った.

1. 再同定と種名変更

6,670 株のシーケンス情報をもとに, まず DNA データバンク (DDBJ) に対して BLAST 検索を行った. BLAST 検索ではタイプ由来株や, AFTOL プロジェクト番号のシーケンスデータと一致または高い相同性を示した菌株については問題なしとした. しかし NBRC に保存されている 3,604 種のうち 1,600 種が DDBJ に登録されておらず, BLAST 検索だけでは明確な判定できなかった. そこで, 場合によっては分類群ごとの分子系統解析も組み合わせて判定を行った. 菌名に疑いが生じた場合は, 形態観察や, (財) 発酵研究所 (IFO) から移送された寄託時のオリジナル標品に近いロットに遡り, 再度シーケンスチェックを行うなどして判定作業を進めている.

再同定や, 分類体系の移行に伴う菌名表記の見直しによって, 86 株の菌名を変更した. 加えて 108 株は登録されている菌名に疑いがあること, 570 株は DDBJ に登録されているデータからでは菌名が確定できなかったことをデータベース上で表示した.

新規に NBRC に寄託される菌株についても, 分譲用の標品を作製しチェックする過程でシーケンスを行っており, 菌名の検証, コンタミチェックなどに利用している.

2. シーケンス情報データベース

2010 年 2 月現在, 分譲対象にしている糸状菌全体の 85.5% にあたる 6,670 株のシーケンス情報は Web 版 NBRC データベースから公開されており, ユーザーが自分の株のシーケンスデータを使って, このデータベース内でのホモロジー検索を行うことも可能である. 今後はタイプ由来株を優先しながら DDBJ にもシーケンスを登録していく予定である. (<http://www.nbrc.nite.go.jp/NBRC2/HomologyDispSearchServlet>)

O-2 接合菌ヒゲカビの変異株コレクションの解析—コロニー形成変異株 *col* の成長解析

渡辺亮介, ○宮崎 厚
石巻専修大理工学部基礎理学科

【背景と目的】石巻専修大学 ISU コレクションには接合菌ヒゲカビ *Phycomyces blakesleeanus* Burgeff の野生株およびそれら由来の変異株が多数保存されている. 本研究ではまだ解析の行われていないコロニー形成変異株 *col* に注目し, フラクタル次元を導入した成長解析を行うことで変異の特徴付けを行った.

【材料と方法】標準野生株 NRRL1555(-) の NTG 処理により作出されたコロニー形成変異株 B69, C25, C139, H14 の胞子を PDAYC 培地 (PDA に 0.1% 酵母エキスと 0.1% カシトンを添加) に播種し, 恒明下室温約 20°C で 1 日培養後, その胞子発芽体画像を Photoshop で 2 値化し, 解析ソフトを用いてフラクタル次元を算出した. 成長を制御 (抑制) する目的でマンニトール, 細胞骨格 (アクチン) との関連を見る目的でサイトカラシン A を培地に添加した. また, 数日間にわたり菌糸成長度を観察した.

【結果と考察】まず, 解析ソフト (ボックスカウント法) と手計算 (ボックスカウント法) から算出されるフラクタル次元を比較したところ, 解析ソフトの有用性が確認された. このことは同時に菌糸成長のパターンはフラクタルであることを示す. 野生株 NRRL1555 と変異株 C25, C139 は菌糸成長度に大きな差 (変化) が見られたが, フラクタル次元における変化はそれ程大きいとは考えられなかった. 一方, 変異株 B69 と H14 は, 野生株と比較して菌糸成長度 (抑制) およびフラクタル次元 (増大) の変化が大きかった. マンニトールにより成長を抑制した野生株ではフラクタル次元はほとんど変化しないことから, 変異株 C25, C139 は菌糸の成長速度が遅い変異株 (両者でその程度は異なる) と考えられた. アクチン重合を阻害するサイトカラシン A の添加により, 野生株における菌糸成長度の抑制とフラクタル次元の増大の傾向が見られた. このことは, 変異株 B69 と H14 における変異性は, アクチンフィラメントが担う現象と関連することを示唆する.

【謝辞】本研究は、(独) 農学・食品産業技術総合研究機構から利用許可を得た「フラクタル解析システム (P6065-1)」を用いて行われた。

O-3 新規分子系統マーカー遺伝子を用いた MLST 解析による *Aspergillus* 属の種識別法の開発

中村仁美, ○成 廣隆, 鶴岡直樹, 松本令奈, 百瀬祐子, 丸山明彦, 花田 智

産業技術総合研究所 特許生物寄託センター

【背景】かびや酵母などの真菌の系統分類は、古くから菌糸や細胞の形態情報に基づいて行われてきたが、近縁種を識別するためにはある程度の経験と時間を要する。真菌には、食品製造や物質生産などの分野において産業利用されている有用な種が数多く存在するだけでなく、重篤な真菌症を引き起こす危険な種も存在していることから、産業や医療の現場において、誰もが迅速かつ簡便に真菌の種を識別できる手法の開発が望まれてきた。最近になって、原核生物の分類指標遺伝子となっている rRNA 遺伝子や、それらに挟まれた形で存在する転写領域中スパーサーである ITS 領域遺伝子の塩基配列に基づく真菌の系統分類が広まりつつあるが、公共 DNA データベースに登録されている真菌由来の遺伝子情報の量は原核生物に比べて少なく、識別の基盤となる情報が十分に整備されていないのが現状である。本研究では、真菌のなかでも食品産業等において広く利用されている菌種と毒素生産性を有する菌種が混在する *Aspergillus* 属の *Flavi* 節と *Nigri* 節に属する菌株を対象として、16 種類の分子系統マーカー遺伝子が種の識別に適用可能かどうかを検証した。

【実験材料と方法】*Aspergillus* 属菌株を NBRC および ATCC から購入し、FTA カードを用いて菌体から DNA を抽出した。rRNA 遺伝子や ITS 領域遺伝子を含む 16 種類の遺伝子をそれぞれ PCR 増幅し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列情報を基に近隣結合系統樹を作成し、ブートストラップ法により樹形の信頼性を検定した。

【結果と考察】今回適用した 16 種類の遺伝子からは、*Aspergillus* 属の *Flavi* 節と *Nigri* 節に属する種を単独で識別可能な遺伝子は見出されなかったが、数種類の遺伝子情報を用いた MLST 解析により、種レベルでの識別が可能であることが示唆された。

O-4 醸造用黒麹菌を含む *Aspergillus* section *Nigri* の類別及びオクラトキシン A 産生性

○橋本ルイコ¹, 各務清美², 横山耕治², 王 麗³, 川上裕司⁴, 陰地義樹⁵, 浅野勝佳⁵, 久米田裕子⁶, 高橋治男¹

¹ 千葉県衛生研究所, ² 千葉大学真菌医学研究センター, ³ 吉林大学白求恩医学院, ⁴ (株) エフシージー総合研究所, ⁵ 奈良県保健環境研究センター, ⁶ 大阪府公衆衛生研究所

【目的】*Aspergillus* section *Nigri* は、ヒトなどの病原真菌、植物病原菌であるとともに泡盛などの焼酎を製造する麹菌として重要な菌群であり、この菌群が産生するマイコトキシンは食品衛生上の重大な問題となりうる。一方で、section *Nigri* の汚染による干しブドウ、ワイン等から発がん性を有するマイコトキシンのオクラトキシンが検出された報告があり、これらの菌群を識別し、カビ毒産生性の有無を確認することは早急の課題である。しかしながら、これらを形態的に類別・同定することは非常に困難な場合がある。そこで、分生子の表面の微細構造の観察による形態的類別と同時に、チトクローム *b* (Cyt *b*) 遺伝子及びリボゾーム DNA (rDNA) D1/D2 領域、ITS 領域を用いた遺伝子解析による類別を行った。また、これらの株のオクラトキシン A (OTA) の産生性を検討した。

【方法及び結果】供試菌株は、醸造用黒麹菌保存株 (*A. foetidus*, *A. kawachii*, *A. awamori*)、中国各地の土壤分離株、国内ブドウ園の土壤分離株を用いた。分生子の表面構造を走査電子顕微鏡で観察した結果、概ね 3 菌種 (*A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. niger*) に類別されたが、各菌間には連続的な形態変化が認められ、形態的観察のみでこれらの種を類別することは困難と考えられた。Cyt *b* 遺伝子の部分配列、rDNA の D1/D2 領域、ITS 領域を PCR 法により解析した結果、それぞれ 15, 9, 8 群の DNA タイプに類別された。さらにこれらを組み合わせることにより 22 のグループに類別することができた。また、これらの類別と形態的な類別は概ね一致した。OTA 産生性を検討した結果、産生性を有する株は特定の遺伝子グループに集中していた。*A. carbonarius* 分離株のほとんどが OTA を産生し、産生量も多かった。一方、供試した醸造用黒麹菌の OTA 産生性は全く見られず、*A. niger* においては極めて希で、産生量もごくわずかであった。

これらのことから、醸造用黒麹菌には OTA 産生性はないと考えられた。また、section *Nigri* の菌群においては、表現型は遺伝子型とほぼ一致していると考えられるが、菌種間の形態が非常に類似していることから、同定が困難な場合には両方を併用するべきであると考えられた。

O-5 NIES コレクションにおける保存株の再同定— *Chlamydomonas* 属として寄託された株について

湯本康盛¹, 河地正伸², ○笠井文絵²

¹ (財) 地球・人間環境フォーラム, ² 国立環境研究所

Chlamydomonas reinhardtii や *C. moewusii* といった古くから遺伝学の研究材料として利用されてきた種を含む *Chlamydomonas* 属 (緑藻綱オオヒゲマワリ目) は, 分子系統解析によって多系統であることが示され, 属の改訂・整理が行われ, *Oogamochlamys* 属や *Lobochlamys* 属などが設立されている (Pröschold *et al.*, 2001). 一方で, *Chlamydomonas* 属を含むオオヒゲマワリ目全体の形態種とその分子系統の整理にはまだ時間がかかることから, 18S rRNA 遺伝子の塩基配列を用いた PhyloCode による整理が提唱されている (Nakada *et al.*, 2008).

NIES コレクション (独立行政法人国立環境研究所微生物系統保存施設) には, 90 にのぼる *Chlamydomonas* 属培養株が寄託・保存されている. そのうち約 60 株は東大 IAM コレクションから移管された株であり, これらは 1960 年代に当時のインディアナ大学コレクションから受け入れた株と日本人研究者によって寄託された株からなる. 残りの約 30 株は NIES コレクション設立後に日本人研究者により分離され寄託された株である. 両者を含めた株の多くは 18S rRNA 遺伝子の情報がないことから, 本研究では, この塩基配列データを求め, NIES コレクションにある *Chlamydomonas* 属培養株の再同定を行った. この結果を, 他コレクションに保存されている authentic 株を用いた系統解析の結果や Nakada *et al.* の PhyloCode に基づいて報告する.

Pröschold *et al.*, 2001, Protist, 152: 265-300

Nakada *et al.*, 2008, Mol Phylogenet Evol, 41: 281-291

O-6 温泉から分離した *Caldisericum exile* とそのゲノム解析

○森 浩二¹, 山田 (成田) 佐知子¹, 中村早苗¹, 中澤秀和¹, 藤田信之¹, 浦辺徹郎², 鈴木健一朗¹

¹ (独) 製品評価技術基盤機構 (NITE)・NBRC, ² 東大院・地球惑星

長野県北安曇郡小谷村の地下 400 m より採取した温泉 (70°C, pH 7.3) から, 好熱性嫌気性細菌 AZM16c01^T 株 (NBRC 104410^T) を分離した. 本株は, 細長い糸状型の細菌であり, 65°C, pH 6.5 を至適条件として, 硫黄化合物を還元することでエネルギーを得て従属栄養的に増殖していると考えられる. 16S rRNA 遺伝子配列に基づいた系統解析の結果, AZM16c01^T 株は *Bacteria* において既知の培養株とは相同性が低く, 温泉などで検出される環境クローンのみから構成される未培養微生物群 OP5 門に属することが判明した. 生理性状と 16S rRNA 遺伝子配列に基づいた解析から, AZM16c01^T 株を新属・新種 *Caldisericum exile* と命名し, 本属が含まれる OP5 門を新門として *Caldiserica* 門を提案し, 承認された. これまですべての細菌は 25 門のいずれかに属していたが, 新たに *Caldiserica* 門が加わったこととなる.

Caldiserica 門に属する微生物の生態学的調査の結果, 小谷村温泉郷においては, 硫黄化合物が含まれる源泉に数%の割合で本微生物群が生息していることも判明した. 実際に長野県の温泉である七倉温泉から, 同様な培養条件により 16S rRNA 遺伝子配列で 100%一致する AZM36c05 株 (NBRC 106117) を得ている.

C. exile AZM16c01^T の全ゲノムをホールゲノムショットガン法により決定し, ゲノム上に予想された ORF の詳細なアノテーションを行った. ゲノムサイズは 1.6 Mbp 以下と小さく, 遺伝子コード領域は 93%であった. また, アノテーションの結果, これまでの分類学的試験からは判断できなかった, 増殖に対する酵母エキスの必須性の意味, 細胞の構造, エネルギー獲得機構など本細菌の興味深い特質が予想されたので紹介する.

参考文献

Mori, K. *et al.*, Appl. Environ. Microbiol. 74: 6223-6229, 2008.

Mori, K. *et al.*, Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 59: 2894-2898, 2009.

O-7 欠損バクテリオファージ非産生 *Bacillus subtilis* (*natto*) 株の作出

○永井利郎, 佐藤豊三, 青木孝之, 澤田宏之, 富岡啓介, 埋橋志穂美, 中島比呂美
農業生物資源研究所 ジーンバンク [MAFF]

第16回大会にて、納豆菌 *Bacillus subtilis* (*natto*) MAFF 118147 は欠損バクテリオファージ (ゲノム DNA が不完全なため自己複製が不可能なファージ) を菌体外に放出することを発表した。欠損ファージを生産する菌株は NIAS ジーンバンクの他の *B. subtilis* にも広く存在していた。欠損ファージを生産する納豆菌を宿主に用いて自己複製が可能なファージの実験を行った場合、目的のファージに欠損ファージが混入することにより実験結果に悪影響を及ぼすことがある。目的のファージから欠損ファージを除くには密度勾配超遠心分離を行う必要があり、操作が煩雑でコストもかかる。そこで、納豆菌の欠損ファージ非産生 (DP⁻) 株を作出することで問題解決を図った。本報告では DP⁻ 株の作出の詳細について紹介する。

始めに欠損ファージに対する指示菌を NIAS ジーンバンクの中からスクリーニングした。納豆菌 MAFF 118147 の培養上清を、試験菌体を含む軟寒天上にスポットし、溶菌斑が形成されるかどうかを観察した。140 株の *B. subtilis* を調べたところ、73 株に溶菌斑が形成された。その中から、よりクリアな溶菌斑が形成され、軟寒天中で均一な菌叢となる 1 株を指示菌に採用した。更に、DP⁻ 株のスクリーニングを容易にするためにその指示菌に薬剤 (リファンピシン) 耐性を付与した。

納豆菌 MAFF 118147 はポリグルタミン酸 (PGA, 納豆の糸の主成分) も生産する。PGA はファージの吸着を阻害し、またファージ DNA の調製の際に混入するので、まず自然突然変異により PGA 非産生 (PGA⁻) 株を取得した。次に PGA⁻ 株を変異剤であるアクリジンオレンジの存在下で培養し、その培養液からランダムに 96 株を分離した。それら菌株の培養液上清を、指示菌を含む軟寒天培地 (培養液上清中の菌の増殖を抑えるためにリファンピシンを加えている) にスポットしたところ、溶菌斑を形成しない菌株を 1 株見出した。本菌株の培養上清及び菌体からは欠損ファージ由来の 13.5 kb の DNA 断片は検出できなかった。DP⁻ 株の生育速度は親株 (MAFF 118147) と同じであり、また納豆菌ファージ JNDMP に対する感受性は親株よりも高かった。実用的な DP⁻ 株が得られたので、本菌株を NIAS ジーンバンクに登録し公開する予定である。

O-8 チンチラの糞便から分離された *Bacteroides* 属の新種提唱

○北原真樹¹, 土田さやか², 川角 浩², 天尾弘実², 坂本光央¹, 辨野義己³, 大熊盛也¹

¹ 理研 BRC-JCM, ² 日獣大・動物科学科・実験動物学, ³ 理研・知的財産戦略センター・辨野特別研究室

チンチラ (*Chinchilla lanigera*) は、アンデス山脈に起源を持つ中型のげっ歯類であり、モルモットと近縁にある動物種である。実験動物としては肺炎球菌や緑膿菌による耳炎の研究に使用されており、近年ではペットとしての需要も高まっている。これまでチンチラの腸内細菌の研究は Worthington と Fulghum による報告のみであり¹⁾、分離された菌株は生理生化学性状に基づく同定から主に *Bacteroides* 属と *Lactobacillus* 属菌種であった。そこで本研究ではチンチラの最優勢腸内細菌の 1 つである *Bacteroides* 属菌株を分離し、分離株について分類学的研究を行った。

日本獣医生命科学大学・生命科学共同研究施設で飼育しているチンチラ 4 匹 (11 年 2 匹, 2 年 2 匹) の糞便を実験に使用した。糞便採取後、段階希釈し EG 血液寒天培地, BL 血液寒天培地に塗布し、嫌気培養した。出現したコロニーについてグラム染色を行い、グラム陰性無芽胞桿菌 94 株を選択した。94 株の 16S rRNA 遺伝子配列を決定し、BLAST 検索を行った。今回、分離株のうち 3 株 (ST28, ST170, ST180) について分類学的研究を行ったので報告する。

ST170 および ST180 については 16S rRNA 遺伝子配列の類似度は 99.7% であり、近縁種は *B. massiliensis* JCM 13223^T (95.1%), *B. dorei* JCM 13471^T (94.6%) および *B. vulgatus* JCM 5826^T (94.4%) であった。一方、ST28 は *B. uniformis* JCM 5828^T と 98.1% の類似度を示した。さらに 3 株の *hsp60* 遺伝子配列に基づく系統関係においても既存の菌種とは異なる低い類似度を示した。ST28 については *B. uniformis* JCM 5828^T と DNA-DNA ハイブリダイゼーションを行った結果低い相同値を示したことから新菌種であることが明らかとなった。

以上の結果より、これら分離株を *Bacteroides chinchillae* sp. nov. (基準株 ST170^T = JCM 16497^T) および *Bacteroides rodentium* sp. nov. (基準株 ST28^T = JCM 16496^T) として命名提案することとした。

1) Worthington, J.M. & Fulghum, R.S. (1988). Cecal and fecal bacterial flora of the Mongolian gerbil and the chinchilla. *Appl Environ Microbiol* 54, 1210-1215.

O-9 奄美大島の海水から分離した、phylum Bacteroidetes に属する新属新種 *Marinifibra amamiensis* の提案

○村松由貴, 高橋麻衣, 鎌倉由紀, 鈴木健一朗, 中川恭好
(独) 製品評価技術基盤機構・NBRC

我々は、2000年から2001年に日本の亜熱帯各地域から *Cytophaga* 類縁細菌 115 株を分離し (1), これまでにそれらの一部を新種として報告した (2, 3). 今回は、Family *Cryomorphaceae* に属した AM11-6^T (=NBRC 101268^T) 株について、分類学的検討を行った結果を報告する.

Family *Cryomorphaceae* は、2003年、16S rRNA 遺伝子塩基配列のクラスタリングに基づき、Family *Flavobacteriaceae* に近縁な科として提案された. この科に含まれる属として *Fluviicola* 属, *Wandonia* 属などが報告されている. AM11-6^T 株は、16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統樹において、*Wandonia haliotis* Haldis-1^T, *Fluviicola taffensis* RV262^T とクラスターを形成したが、それぞれに対して 93.7%, 91.8% の相同性しか示さなかった.

AM11-6^T の主要脂肪酸 (10% 以上) は C15:0 iso, C17:0 iso 3OH であり、脂肪酸組成により Family *Cryomorphaceae* の各属と識別することができた. さらに、*Fluviicola taffensis* と *Wandonia haliotis* ではアルカリによる色素の変色として検出されるフレキシルビン反応が見られるのに対し、AM11-6^T では同反応を示さず、フレキシルビン色素の存在でも相違が見られた.

また AM11-6^T 株は生育に NaCl を要求するが、*Fluviicola* 属細菌は淡水から分離されており、NaCl を必要としない. 一方、海水から分離され、生育に NaCl を要求する *Wandonia* 属細菌は、細胞長は 2-5 μm であり、AM11-6^T 株にて見られるフィラメント状の細胞が観察されない点で異なっている. これらの結果に基づいて、AM11-6^T 株に対して新属新種 *Marinifibra amamiensis* を提案する.

1. Nakagawa. Microbiol. Cult. Coll. 20, 41-51 (2004).
2. Takahashi *et al.* Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53, 1343-1355 (2003).
3. Muramatsu *et al.* Int. J. Syst. Evol. Microbiol. in press.

O-10 タイ産の発酵食品由来の乳酸菌に関する共同研究について

○宮下美香¹, P. Rattanawaree², W. Chaipitakchonlatarn², T. Malimas², W. Potacharoen², 中川恭好¹, K. Kirtikara², M. Tanticharoen², 鈴木健一朗¹
¹ (独) 製品評価技術基盤機構・NBRC, ²BIOTEC, タイ

熱帯地域の微生物遺伝資源の保全と持続可能な利用のため、我々はタイの BIOTEC との間で包括的覚書を締結して共同研究を行っている. タイにはほかのアジア諸国と同様に様々な発酵食品があり、関与している微生物の知見は少ない. 2008年度からタイの発酵食品由来乳酸菌を対象とする共同研究を開始して2度のサンプリングを行い、昨年度の本学会大会において、1回目のサンプリングから得られた乳酸菌について研究成果を報告した. 今回の報告では、2回目のサンプリングから得られた分離株を含めた現在までの進捗状況を報告する.

2008年の第1回サンプリングでは、タイ東北部で収集した魚の発酵食品 60 サンプルから 363 株の乳酸菌を分離した. これらの 16S rRNA 遺伝子塩基配列を解析した結果、363 株は *Enterococcus* 属 (31 株), *Lactobacillus* 属 (301), *Pediococcus* 属 (23), *Weissella* 属 (8) の 4 属 19 種に分類された. *Lactobacillus* 属に含まれた数株は新種である可能性が示唆されたため、表現性状を中心にさらなる分類学的研究を進めている.

2009年の第2回サンプリングで、タイ北部の南側で収集した野菜や魚の発酵食品 62 サンプルから 669 株を分離し、16S rRNA 遺伝子部分配列を決定して BLAST 検索を行った結果、582 株は *Aerococcus* 属 (1 株), *Enterococcus* 属 (39), *Lactobacillus* 属 (479), *Pediococcus* 属 (49), *Tetragenococcus* 属 (7), *Weissella* 属 (7) の 6 属に分類され、87 株は *Staphylococcus* 属と同定された.

今後、これら分離株の種レベルの同定や生理的特徴などの解析を進め、選抜した株を NBRC に登録して公開していく. 既に、BIOTEC が保有していた肉の発酵食品由来の乳酸菌 300 株については、16S rRNA 遺伝子塩基配列や分離源情報をもとに 48 株を選抜し、NBRC に登録して公開している.

ポスター発表

P-1 Phylogenetic analysis of *Bacillus cereus* group based on the *dnaJ* gene for species identification

○ Jiwei Zhang, Pham Van Hung, Masatahiro Hayashi, Shigeru Yoshida, Kiyofumi Ohkusu and Takayuki Ezaki
 Department of Microbiology, Regeneration and Advanced Medical Science, Gifu University Graduate School of Medicine

Aim: *Bacillus cereus* group share a high degree of genetic similarity. To differentiate and identify the *Bacillus cereus* group efficiently, we attempted to analyze their house keeping gene, *dnaJ* as diagnostic marker in this study.

Methods and results: A pair of common primer targeting the *dnaJ* gene was designed for six species of the *B. cereus* group. The *dnaJ* gene sequencing was performed for 6 type strains (*B. cereus*, *B. thuringensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*) and 68 isolates of the *B. cereus* group bacteria from GTC collection. The assay for the *dnaJ* gene sequence (about 830bp) from all the *B. cereus* group bacteria indicated that among the 6 type strains of *B. cereus* group species, the mean sequence similarity of the *dnaJ* gene (91.5%) was significantly less than that of the *16SrRNA* gene (99.5%), showing a high discriminatory power of the *dnaJ* gene. 68 isolates were correctly clustered to the corresponding type strains, except for some *B. cereus* strains that created a new clade close to *B. thuringensis* cluster. This suggested that to identify the *Bacillus cereus* group, other useful molecular marker must be explored.

Conclusions: The *dnaJ* gene indicated a higher discriminatory power than the *16SrRNA* gene. However, for some strains of *B. cereus* and *B. thuringensis* which share almost identical *dnaJ* sequences, other molecular marker such as toxin genes and virulence factors are required to significantly differentiate pathogenic *B. cereus* strains from *B. thuringensis*.

Significance and Impact of the study: We measured *dnaJ* sequence variation of *B. cereus* species to determine range of a species (average diversity degree 4.0%). To define species of the genus *Bacillus*, *dnaJ* gene was proved to be a useful marker.

P-2 Identification of *Campylobacter* and *Helicobacter* species by *dnaJ* sequences analysis and comparison to other house keeping genes

○ Pham Van Hung, Jiwei Zhang, Masatahiro Hayashi, Shigeru Yoshida, Kiyofumi Ohkusu, and Takayuki Ezaki
 Department of Microbiology, Regeneration and Advanced Medical Science, Gifu University Graduate School of Medicine

A robust method for species identification of genus *Campylobacter* and *Helicobacter* were analysed with house keeping genes. The utility of the *dnaJ*, *groEL*, *rpoB* and *gyrB* genes were investigated by analyzing sequences of 34 strains representing 16 *Campylobacter* species and 32 strains representing 17 *Helicobacter* species. The mean sequence similarities of the *dnaJ* gene (*Campylobacter*, 67.7% and *Helicobacter*, 63.2%) were significantly less than that of the 16S rDNA, *groEL*, *rpoB* and *gyrB* genes, indicating a high discriminatory power of the *dnaJ* gene.

Keywords: *Campylobacter*, *Helicobacter*, *dnaJ*; Identification

Materials and methods: After sequencing *dnaJ*, 16S rDNA, *groEL*, *rpoB*, *gyrB* gene sequences were obtained from GenBank and aligned by the Clustal W program (version 1.83). Phylogenetic trees were constructed by the neighbor-joining method and drawn with NJPLOT.

Results and discussion:

• *Campylobacter dnaJ* sequences of approximately 750bp were amplified. The similarity between species ranged from 52.0% to 90.2% (mean similarity 67.7%), indicating a remarkable divergence of the *dnaJ* gene compared to that of 16S rDNA, *groEL* and *rpoB* genes (94.6%, 79.5% and 78.6%). The significant correlation

($r=0.778$) between *dnaJ* and 16S rDNA more than ($r=0.239$, $r=0.319$, respectively) between *groEL*, *rpoB* and 16S rDNA sequence variations showed that the *dnaJ* gene is the discriminatory power of 16S rDNA and other housekeeping genes.

• *Helicobacter dnaJ* sequences of approximately 600bp were amplified showed statistically higher discrimination (similarity ranged from 51.9% to 92.5%, mean 63.2%) than the 16S rDNA (95.3%), *groEL* (79.9) and *gyrB* (72.2%) genes, making discrimination of these species obvious.

The correlation coefficient between *dnaJ* and 16S rDNA sequence similarities ($r=0.396$) was statistically higher than that between *groEL*, *gyrB* and 16S rDNA ($r=0.295$, $r=0.305$, respectively) sequence similarities, suggesting that the relationship between a pair of taxa in *dnaJ* is more coherent with 16S rDNA and other conserved genes.

• All *Campylobacter* and *Helicobacter* clinical strains, were correctly identified after partial sequencing of *dnaJ*, although 16S rDNA sequencing and biochemical tests could not clearly differentiated, for example *C. jejuni* from *C. coli*.

Significance and impact of the study: The results of this study demonstrate the potential for use of *dnaJ* sequences as a tool for identification of *Campylobacter* and *Helicobacter* species, particularly for clinical isolated.

P-3 嫌気性グラム陰性桿菌の分類における *hsp60* 遺伝子の有用性

○坂本光央, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

【目的】 *Bacteroides* 属を中心とする嫌気性グラム陰性桿菌は、ヒトおよび動物の腸管内や口腔内に多数棲息しており、また時としてヒトおよび動物に様々な疾患を起こさせる菌種を含み臨床細菌学上重要な細菌群である。我々は 16S rRNA 遺伝子だけでなく、その他様々な遺伝子を使って *Bacteroides* 属およびその類縁細菌群の分類体系を再構築することを目標としており、これまでに *Bacteroides* 属内における *hsp60* と 16S rRNA 遺伝子配列の関連を明らかにした¹⁾。本研究では、*Bacteroides* 属以外の嫌気性グラム陰性桿菌の分類における *hsp60* 遺伝子の有用性について検討を行った。

【材料および方法】 *Bacteroides* 属 38 種 42 株 (既に報告した 29 種 31 株を含む), *Barnesiella* 属 2 種 2 株, *Butyricimonas* 属 2 種 2 株, *Odoribacter* 属 2 種 2 株, *Parabacteroides* 属 5 種 5 株, *Paraprevotella* 属 2 種 2 株, *Porphyromonas* 属 16 種 17 株, *Prevotella* 属 38 種 48 株および *Tannerella* 属 1 種 1 株の合計 9 属 106 種 121 株を対象とした。これら菌株の *hsp60* (558 bp) および 16S rRNA 遺伝子 (約 1500 bp) を標的として塩基配列を決定し、各菌種内および菌種間の類似度を求め、両遺伝子間の相関性を検討した。

【結果および考察】 *hsp60* 遺伝子配列の各菌種内の類似度は、*Porphyromonas gingivalis* の 98.9% (16S rRNA 遺伝子配列では 99.7%) から *Bacteroides* 種内や *Prevotella* 種内の 100% (100%) と非常に高い類似度を示した。16S rRNA 遺伝子配列の各菌種間の類似度は、*Bacteroides* 属が 83.5-100% (平均 91.2%), *Barnesiella* 属が 96.3%, *Butyricimonas* 属が 94.1%, *Odoribacter* 属が 90.0%, *Parabacteroides* 属が 92.1-97.9% (94.1%), *Paraprevotella* 属が 93.8%, *Porphyromonas* 属が 84.6-99.9% (88.3%) および *Prevotella* 属が 85.6-97.8% (89.6%) であるのに対して、*hsp60* 遺伝子では *Bacteroides* 属が 71.6-100% (84.3%), *Barnesiella* 属が 84.7%, *Butyricimonas* 属が 83.5%, *Odoribacter* 属が 78.0%, *Parabacteroides* 属が 83.3-97.1% (87.9%), *Paraprevotella* 属が 97.1%, *Porphyromonas* 属が 67.3-100% (73.8%) および *Prevotella* 属が 67.9-94.4% (77.5%) であった。以上の結果より、*Bacteroides* 属以外の嫌気性グラム陰性桿菌の分類においても *hsp60* 遺伝子の有用性が明らかとなった。本研究は財団法人発酵研究所 (IFO) の助成によって行われた。

1) Sakamoto *et al.* (2010) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, in press.

P-4 農業生物資源ジェンバンク事業微生物遺伝資源部門 (MAFF) の 2009 年の活動と成果

○青木孝之, 澤田宏之, 富岡啓介, 佐藤豊三, 永井利郎, 竹谷 勝, 山崎福容, 埋橋志穂美, 中島比呂美, 河瀬眞琴
農業生物資源研究所

【収集保存・特性評価】 農業や食品産業に係る 1,229 株の微生物を新規登録し、2009.12.1 現在、保存株数は 25,531 株 (公開率: 76.4%) である。また、*Fusarium* 属菌の同定に必要な DNA 塩基配列情報はじめ、保存株

の分類学的性状、病原性、物質生産性等、延べ2,549点の特性情報を集積した。公募委託課題として4課題を実施した：①きのこ栽培の害菌、*Trichoderma* 属菌の探索、分子系統解析と代謝産物パターン解析（玉川大）、②トマト葉かび病菌の新たな病原性系統の収集（野茶研）、③細胞性粘菌の作物病害微生物に対する抑制作用（筑波大）、④国内産 *Corynespora cassiicola* 菌株の寄生性と系統進化の解析（高知農技センター）。また、保存株の学名表記を最新の分類体系に従って更新する取り組みとして、⑤ *Erwinia* 属関連細菌の分類検証（静岡大）⑥ *Bradyrhizobium* 属根粒菌と *Rhizobium* 属根粒菌の分類検証（東京農工大）⑦ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*（イネ白葉枯病菌）の分類検証と推奨株の選定（生物研）の3課題と植物ウイルス株の増殖・検査に関して⑧ *Turnip mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus* 等の品質検査・増殖（中央農研）の1課題を委託課題として実施した。

【ユーザーへの提供】2009.4.1～11.30の8ヶ月間で、国内外へ1,139株（申込146件）を配布し、分類同定、遺伝子解析、病害診断等に係る試験研究・教育に広く活用された。また、微生物検索システムを改良するとともに、植物病原微生物株を植物病名等から検索するため「日本植物病名データベース」を構築し公開した。さらに、微生物遺伝資源利用マニュアル（ISSN 1344-1159）25号「フザリウム毒素」、同26号「イネもみ枯細菌病菌 *Burkholderia glumae* とイネ苗立枯細菌病菌 *Burkholderia plantarii*」、同27号「紫紋羽病菌・白紋羽病菌」、同28号「トマト葉かび病菌 *Passalora fulva*」、および微生物遺伝資源探索収集調査報告書（ISSN 0915-2830）第22巻を刊行し、当ウェブサイト（<http://www.gene.affrc.go.jp/publications.php>）にそのPDFを掲載した。

P-5 坂崎利一博士から譲渡された臨床分離株の整備

○飯野隆夫，飯田敏也，押田祐美，大熊盛也，小迫芳正
理研 BRC-JCM

【目的】新興感染症や再興感染症の出現、多剤耐性菌の蔓延など、感染症が日々深刻な社会問題になりながら、病原微生物を組織的に保有・提供できる機関は少なく、各研究者が独自に菌株を収集しなければならないのが現状である。このような背景から、理研 BRC-JCM では、バイオセーフティーレベル 2 (BSL2) の微生物の収集・保存を行っている。本研究では、その一環として、坂崎利一博士より譲渡された臨床分離株に対し、生化学性状および 16S rRNA 遺伝子情報を付加し、臨床分離株の高付加価値化することを目的とした。

【方法】坂崎利一博士より譲渡された BSL2 の臨床分離株を供試菌株とした。供試菌株を十分に培養した後、ID テスト・EB-20 (ニッスイ) を用いて生化学試験を行った。また、16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析を行い、基準株との遺伝子の相同性を比較した。必要に応じ、近隣結合法 (NJ 法) および最尤推定法 (ML 法) を用いて系統解析を行った。

【結果および考察】供試菌株中 8 株を、表現性状と 16S rRNA 遺伝子解析の結果から *Escherichia coli* と同定した。これら 8 株の系統的多様性は 1.4% で 6 種類の表現性状を示した。10 株を *Citrobacter freundii* と同定し、それらの系統的多様性は 1.1%、4 種類の表現性状であった。同様に、1 株を *Citrobacter amalonaticus*、3 株を *Citrobacter koseri*、3 株を *Cronobacter sakazakii*、6 株を *Enterobacter aerogenes*、3 株を *Enterobacter gergoviae*、7 株を *Enterobacter* sp. と同定した。これらの系統的多様性は 0.1～2.3% で、1～6 種類の表現性状を示した。以上の結果から、JCM で保有する臨床分離株の菌種は多様で、表現性状的にも分子系統的にも多様であることが示された。種々の歴史ある臨床分離株を整備し、多くの研究者が共有できる情報を充実させることが、病原性や薬剤耐性のメカニズム解明と言った臨床微生物学の発展に貢献し得ると考えている。今後、さらに、保有する BSL2 株の高付加価値化を行い、BSL2 株の充実した保存および提供体制を整える予定である。

P-6 農業生物資源ジーンバンク事業において配布する微生物遺伝資源のコンプライアンス

○富岡啓介，永井利郎，澤田宏之，青木孝之，佐藤豊三，白石恵子，堅持文一，河瀬眞琴
農業生物資源研究所

農業生物資源ジーンバンク事業の微生物遺伝資源部門では、食料及び農業に係る菌類、細菌、ウイルス等を、試験研究（育種を含む）又は教育を目的とする利用者に広く配布している。今回、当事業で配布する微生物遺伝資源のコンプライアンス、すなわち、法令、条約、行政措置等に沿った扱いの概要を紹介する。

1) 植物防疫法又は家畜伝染病予防法に定められた輸入検疫有害菌は、公開分譲を含めて農林水産大臣より許可されたものを配布している。

2) 海外産の微生物株は、生物多様性条約に照らして問題がないもの（1993年以前に輸入されたもの、又は当事業からの第三者配布を認める材料移転契約が付帯されているもの）を配布している。

3) 国内産のスイカ果実汚斑細菌病菌 (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) 及びエンドウ萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*) は、当事業と配布申込者の双方が植物防疫所へ事前に届け出た上で配布している。

4) 提供者の事情で非公開期間 (最長5年) が設定された微生物株は、その期間が満了後に配布している。

5) 外国為替及び外国貿易法の戦略物資に指定されているジャガイモ輪腐病菌 (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*)、イネごま葉枯病菌 (*Cochliobolus miyabeanus*)、コーヒー炭疽病菌 (*Colletotrichum coffeanum* var. *virulans*)、サトウキビ白すじ病菌 (*Xanthomonas albilineans*)、イネ白葉枯病菌 (*X. campestris* pv. *oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzae*)、カンキツかいよう病菌 (*X. campestris* pv. *citri*)、イネ・トウモロコシいもち病菌 (*Pyricularia oryzae*, *Py. grisea*, *Magnaporthe grisea*)、ムギ類の黒 (黄) さび病菌 (*Puccinia graminis*, *Pu. striiformis*)、パラゴムノキ南米葉枯病菌 (*Microcyclus ulei*, *Fusicladium macrosporium*) 及び青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) は、国内配布のみとし、海外配布はしていない。

P-7 農業生物資源データベースに登録された新規植物病原菌類等 (2009年)

○佐藤豊三¹、埋橋志穂美¹、森藤丈治²、山口 薫³、廣岡裕史⁴、青木孝之¹、富岡啓介¹、澤田宏之¹、永井利郎¹、井垣善美¹、中島比呂美¹

¹ 農業生物資源研究所、² 中央農業研究センター、³ 製品評価技術基盤機構・NBRC、⁴ USDA-ARS

2009年、演者らが農業生物資源データベースに登録した植物病原菌類等の中で、日本新産種、新宿主から分離された種、および当データベース初登録種とそれらの該当菌株、さらに、再同定により新知見の明らかとなった菌株について報告する。

日本新産種 (菌株)：溪流水由来 *Lasiodiplodia pseudotheobromae* A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous (MAFF 241892, 241893)、クリ由来 *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (MAFF 241811)。新宿主から分離された種 (菌株)：オオミスミソウ由来 *Dumontinia tuberosa* (Bull.) L.M. Kohn (MAFF 241470 ~ 241473) および *Sclerotium rolfsii* Sacc. (MAFF 241822)、ツリガネニンジン・カブ由来 *Pseudozyma aphidis* (Henninger & Windisch) Boekhout (MAFF 230058, 230059)、タイワンホトトギス由来 *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) E.G. Simmons (MAFF 241824)、クリナム・パウエリー由来 *Stagonospora curtisii* (Berk.) Sacc. (MAFF 241823)。当データベース初登録種 (菌株)：メダケ炭疽病菌 *Colletotrichum metake* Sacc. (MAFF 241800, 241845, 241876)、ツユクサ円斑病菌 *Macrophoma commelinae* Togashi (MAFF 241826)、キウイフルーツ由来 *Issatchenkia terricola* (Van der Walt) Kurtzman, M.J. Smiley & C.J. Johnson (MAFF 241290)、アネモネ由来 *Pythium cryptoirregularis* Garzón, Yáñez & G.W. Moorman (MAFF 241480)、ホオノキ由来 *Pyrenopeziza protrusa* Sacc. (MAFF 241818)、オニタピラコ由来 *Curvibasidium pallidicorallinum* Golubev, Fell & N.W. Golubev (MAFF 241802)、非耕地土壌由来 *Cylindrocladiella lageniformis* Crous, M.J. Wingf. & Alfenas (MAFF 241882, 241883)、溪流水由来 *Gliocephalotrichum cylindrosporium* B.J. Wiley & E.G. Simmons (MAFF 241887) および *Pestalotiopsis microspora* (Speg.) G.C. Zhao & N. Li (MAFF 241896)。また、一昨年 *Discospora cylindrospora* Syd. & P. Syd. として登録された西表島産ヒイライギズイナ由来 MAFF 240474 (=NBRC 104649) は、rDNA ITS・28S (D1/D2) 領域の塩基配列が *Meira nashicola* F. Yasuda & H. Otani の登録配列データと100%一致したため、タイプ株 MAFF 230028 との形態比較により同種と再同定した。これにより、本菌が南西諸島に分布することが新たに明らかとなった。

参考文献：

Alves, A., Crous, P.W., Correia, A. and Phillips, A.J.L. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. Fungal Diversity 28: 1-13.

日本植物病理学会 2000, 2009. 日本植物病名目録. 日植防協会, 東京, 880 p., 同追録. 184 p. (http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases.php)

Sato, T., Uzuhashi, S., Hosoya, T. and Hosaka, K. 2010. A list of fungi found in the Bonin (Ogasawara) Islands. Ogasawara Research 36 (in print)

埋橋志穂美・大高伸明・中野七郎・大木健広・富岡啓介・永井利郎・澤田宏之・青木孝之・佐藤豊三 2010. *Dumontinia tuberosa* (Bull.) L.M. Kohn によるオオミスミソウ根腐菌核病 (新称). 日植病報. 76 (1) 印刷中.

Yasuda, F., Yamagishi, D., Akamatsu, H., Izawa, H., Kodama, M. and Otani, H. 2006. *Meira nashicola* sp. nov., a novel basidiomycetous, anamorphic yeastlike fungus isolated from Japanese pear fruit with reddish stain, Mycoscience, 47: 36-40.

P-8 2009年度のJCMの活動報告

○大熊盛也, 小迫芳正, 鈴木基文, 岡田 元, 高島昌子, 工藤卓二, 伊藤 隆, 飯田敏也, 大和田勉, 坂本光央, 北原真樹, 飯野隆夫, 安 光得, 草桶佳代, 都筑智子, 押田祐美, 馬場倫子, 鈴 幸二
理研 BRC-JCM

JCMは、信頼性・継続性・先導性をモットーに「健康と環境の研究に資する微生物」に焦点をあてて学術・研究基盤としての微生物株の収集・保存・品質管理・提供事業を推進している。文科省ナショナルバイオリソースプロジェクト「一般微生物」の中核拠点機関としても活動し、国内外の研究開発の動向を把握しつつ世界最高水準の微生物リソースを整備して幅広い分野の研究に貢献することをめざしている。対象とする微生物は、BSL2までの細菌、古細菌、菌類で、平成21年12月末現在で19,385株を保有し、11,478株を公開している。平成21年度は12月末までに586株を収集し2,652株を提供した。寄託・提供時には、生物遺伝資源寄託・提供同意書を締結して寄託者・利用者の権利と責任の所在を明確にしている。また、細菌・古細菌の新種等の記載に必要な「寄託及び公開の証明書」を12月末までに194株に対して発行した。

品質マネジメントシステムの国際規格ISO9001:2008の認証を継続取得して、品質管理の維持・向上のための運営体制を取っている。寄託時の受入検査を徹底して行い、約5%の寄託株で入れ違い等の不備があることが判明し、誤った株が収集・保存されることがないように品質管理を行った。その他、リソースの普及と関連情報の整備、利用者への啓発活動を目的として、JCM株を利用した成果情報の収集、生物多様性条約に対応した原産国情報の整備、オンラインカタログデータの逐次更新、ニュースレターの発行と毎月のメールニュースの発信、一般向けパンフレットの作成、学会等における広報宣伝活動、今後の事業の改善を目的とした利用者へのアンケート調査などを行った。また、国内外から多数の研究生・研修生を受入れ、3月にはDNA-DNA相同試験の技術研修を行う予定である。

今年度は4月に新室長の赴任があり、11月には政府行政刷新会議の事業仕分けの対象となった。特に事業仕分けにおいては、学会や利用者の方々からたくさんのご支援を受け、この場を借りて御礼申し上げます。微生物保存機関としての今後のあり方や運営について多くの課題が与えられたと考えており、本発表が議論の場となれば幸いです。

P-9 寄託された微生物株は何故生育しないか

○伊藤 隆

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室（理研 BRC-JCM）

理研 BRC-JCMには、絶対嫌気性微生物や独立栄養性微生物、極限環境微生物、これまで未培養であった系統グループに属する微生物などユニークな微生物株が寄託されている。こうした微生物株には複雑な培地組成・培養条件を必要としたり、培養そのものが困難である場合もあるが、寄託者の指示通りに培養を行えば問題なく生育を再現できることが多い。しかし、死滅しているわけではないが、指示通りに培地調製・培養を行っても思うように生育しないことも少なからずあった。このような場合には寄託者に連絡を取り、一つ一つの可能性を検討することで解決してきたが、単純に微生物株を一研究室から他の研究室に移動することでも様々な問題が生じうることを痛感した。しかし、逆に言えば、こうした情報はどうして微生物が培養できないかを考える上で良いヒントになると思われる。また、コレクションから提供した微生物株が提供先で生育しないというクレームもあるが、その対応にも自身の経験があれば適切なアドバイスが可能であろう。

本ポスターでは演者がこれまで経験したいくつかの事例を1) 培地組成、2) 培養器材、3) 培養法、の観点に分けて紹介する。

P-10 NIES コレクション：2009年度の活動と今後の展望

○恵良田真由美¹, 森 史¹, 湯本康盛¹, 佐藤真由美¹, 石本美和¹, 河地正伸², 笠井文絵²

¹ (財) 地球・人間環境フォーラム, ² (独) 国立環境研究所

(独) 国立環境研究所微生物系統保存施設（以下 NIES コレクションと表記）は1983年の開設以来、環境科学・環境問題に関わる種類を中心とした微細藻類および原生動物の収集・保存・分譲業務を行ってきた。本発表では2009年度の本施設の活動内容について報告し、併せて2010年度以降の活動計画等について紹介する。

現在の公開株数は2010年3月現在で2,225株である。網別の内訳は以下のとおりで、これは現在設立されてい

る藻綱の殆ど全てを網羅するものである：藍藻（661株）、灰色藻（7株）、紅藻（広義）（281株；うち258株は淡水産紅藻類）、緑藻（434株）、ペディノ藻（3株）、プラシノ藻（55株）、トレボウキシア藻（115株）、アオサ藻（13株）、車軸藻（213株；うち53株はシャジクモ類）、メソスティグマ藻（5株）、ミドリムシ藻（13株）、クロラクニオン藻（4株）、渦鞭毛藻（96株）、オキシリス類（1株）、アウリアリナ藻（3株）、珪藻（51株）、クリソメリス藻（1株）、黄金色藻（18株）、ディクチオカ藻（8株）、真正眼点藻（4株）、ペラゴ藻（5株）、褐藻（1株）、ピングイオ藻（4株）、ラフィド藻（50株）、シゾクラディオ藻（1株）、黄緑色藻（7株）、所属不明不等毛藻（1株）、クリプト藻（45株）、パプロバ藻（8株）、プリムネシウム藻（51株）、原生動物（広義）（66株）。

これらに加えて、昨年12月以降に受け入れた新規寄託株が約80株あり、試験培養期間が終了した時点でNIES番号付与・公開の予定である。

2009年度の方譲については所外・所内向けの合計が343件1,114株となり、年間の方譲株数が施設の開設以来初めて1,000株を突破した。前年度と同様、炭化水素を産生する*Botryococcus braunii*が人気で、方譲数は保有する2株（NIES-836および2199）の合計で延べ34件60株に達した。

また、NIESコレクションでは昨年度微細藻類92株について新たに完全凍結保存に移行したほか、既存の凍結保存株のうち500株について、危険分散の目的で凍結サンプルの一部をNBRP分担機関の神戸大学に預託した。

本年度は保存株の基本データの充実を図るとともに、HP上での検索機能を強化し、さらに利用しやすいコレクションとなるよう努力したい。

P-11 利尻島および西表島の酵母の多様性：我が国の環境に棲息する酵母インベントリーの作成にむけて

○高島昌子¹、杉田 隆²、今西由巳^{3*}、池田玲子²、Bui Hong Van¹、安 光得¹、鈴木健一朗³、辨野義己^{1**}、大熊盛也¹、関 達治⁴

¹（独）理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室（JCM）、² 明治薬科大学薬学部微生物学研究室、³（独）製品評価技術基盤機構 NBRC、⁴ 大阪大学バンコク教育研究センター

*現：千葉大学真菌医学研究センター、**現：（独）理化学研究所知的財産センター辨野特別研究室

【目的】日本は北海道、本州、四国および九州の4つを含む、大小さまざまな合計6852の島からなり、北東から南西にむかってひとつのラインを形成する（45°N148°E - 24°N122°E）、亜寒帯から亜熱帯までを含む列島である。植物の植生が異なることからそこに棲息する微生物も極めて多様であると推測される。これらのインベントリー作成のため、本研究においては、特に南北の比較を目的として、利尻礼文サロベツ国立公園内の利尻島および西表石垣国立公園内の西表島を調査地として選定した。

【方法】土壌、植物および水を含む各種サンプルを自然界から採集し、これらから酵母を分離した。採集は、利尻島は2007年7月および2008年9月、西表島は2007年9月および2008年11月の各2回行った。分離株のDNAからLSUリボゾームRNA遺伝子のD1/D2領域（約580塩基）をPCRによって増幅し、塩基配列を決定した。この配列に基づき、①既知の種と併せて系統樹を作成するとともに、②塩基配列の類似度が99%以上のものを同種と判断して、簡易同定を行った。

【結果と考察】分離株約1500株のうち、約8割は担子菌系酵母で、子囊菌系酵母は約2割であった。今回の分離で利尻島と西表島から共通に分離された種は、2種のみで、*Rhodotorula minuta*および*Cryptococcus pseudolongus*（旧*C. humicola* complex）であった。同定された種から両地域に棲息する酵母の特徴を挙げると、利尻島からは、*Trichosporon porosum*や*C. terricola*、*C. podzoricus*、*Sporobolomyces roseus*とその類縁菌など日本国内や欧米等から報告されているデータと共通のものが分離された。*Leucosporidium scottii*など好冷性を有する種が分離された一方、国内や欧米、南米などから分離され生育最高温度が23℃程度である*Udeniomyces*属酵母は分離されなかった。西表島からの分離されたものは*Kazafstania yakushimaensis*や*Sporobolomyces ogasawarensis*など屋久島や小笠原諸島からの分離株などと共通な種や、*Rhodotorula bogoriensis*など熱帯地域の酵母と共通点が見いだされた。本結果から、土壌や植物など環境に棲息する酵母の種の多様性における「北」と「南」の差は厳然として存在するといえる。しかしながら、利尻島分離株および西表島分離株は、系統樹上では酵母の各系統枝に存在し、地域特有の系統枝は見いだせなかったため、今後は「北」と「南」の差に影響を与える要因について解析が必要である。

【謝辞】本研究は財団法人発酵研究所の助成を受けて行われた。

P-12 特許生物寄託センターにおける保管微生物の安全性確認

○鶴岡直樹, 中村仁美, 成 廣隆, 松本令奈, 田中裕美, 田部有美子, 萩谷佳子, 花田 智, 丸山明彦
産業技術総合研究所特許生物寄託センター

特許生物寄託センター (IPOD) は, 1966 年に特許微生物の受託・保管業務を開始して以来, 特許庁長官の指定する寄託機関 (1970 年) として, また, ブダペスト条約上の国際寄託当局 (1981 年) として, 国内外の特許発明に係る微生物の受託・分譲, 及び微生物の長期保存, 形質・機能維持等の技術開発に関する業務を行ってきた。したがって, IPOD 保管株の中には, 分類指標遺伝子による系統分類体系が整備されていない時に寄託されたものが多数存在しており, その安全性確認に支障が生じていた。また, この数十年の間に多くの新属, 新種が提案され, 既存種の再分類もなされてきている。そのため寄託株の中には, 現在の分類体系に照らして再分類を行った場合, 分類学上の位置が申告されたものと異なることも考えられる。場合によっては, 病原性微生物として取り扱う必要が生じる可能性もあり, 業務従事者や分譲請求者等が安全に取り扱える範囲の微生物であるかどうか確認することが急務となった。

そこで IPOD では, 2008 年の経済産業大臣の指示や 2009 年の寄託制度に関する告示の改定にもとづいて, 約 11,000 の保管株についての安全確認作業を行っている。特に, 過去に受託した株で分類指標遺伝子の情報等, 再分類に必要な情報が提供されていない約 6,000 株については, IPOD 内で遺伝子解析による簡易同定を行い, その安全性を確認している。

この簡易同定では, まず rRNA 遺伝子に着目し, 細菌では 16S, 真菌では D1/D2 と ITS 領域を解析している。解析にあたり時間を要する培養工程を省略するための検討を行い, 乾燥または凍結状態で保管されている菌体の懸濁液から FTA カードを使用して DNA を抽出し, 対象領域の遺伝子の増幅と配列解析を行う方法を採用した。また, 一連の解析は, 作業者の安全を確保しつつ正確かつ効率的に行うため, ロボットを使用するなどして可能な限り自動化している。また, rRNA による簡易同定のみでは安全性の判定が困難な大腸菌群や *Bacillus cereus* 類縁菌種については, 病原性に関わる遺伝子の検出試験も実施して判断している。現在までに約 4,000 株の解析が終了しており, 2011 年度内には全ての保管株の安全確認を終了する予定である。

P-13 中国貴陽の患者より分離した *Candida albicans* の DNA タイプについて

○劉 瑩 (Liu ying)¹, 王 和², 各務清美¹, 横山耕治¹

¹千葉大学真菌医学研究センター, ²中国貴州省貴陽基礎医学院

中国貴州省貴陽の患者より分離した *Candida albicans* の薬剤感受性を調べた結果, 貴陽の分離株に特有な感受性の違いを示す株は見られなかった。これらの株に関して分離地に特徴的な DNA タイプが有るか否かを, チトクローム *b* 遺伝子, リボゾーム DNA の D1/D2 領域, 交配ホルモン遺伝子の有無とその塩基配列を調べて検討した。

【材料と方法】中国貴陽の呼吸器感染症患者より分離された *C. albicans* 13 株と真菌医学研究センター保存株を用いてチトクローム *b* 遺伝子の一部を PCR プライマーを用いて増幅し, 塩基配列を解析した。リボゾーム DNA の D1/D2 領域については, 汎用の PCR プライマー, NL1, NL4 を用い, 交配 α ホルモン遺伝子の増殖には, MTL α 1F と MTL α 1R, 交配型 α ホルモン遺伝子の増幅には, MTL α 2F と MTL α 2R を用い, 増幅できた株については塩基配列を決定した。

【結果と考察】センター保存株及び貴陽の患者分離株のチトクローム *b* 遺伝子解析の結果, *C. albicans* は, 7 つの DNA タイプを含んでいた。貴陽の患者分離株は, タイプ 1, 3, 5, 6 であった。リボゾーム DNA の D1/D2 領域については, 5 つのタイプに分かれ, 貴陽の患者分離株は, 1, 3, 4 のタイプを含んでおり, PCR で増幅できない株が 2 株あった。交配ホルモン遺伝子の増幅の結果, 貴陽の患者分離株は全て α/α のヘテロタイプを示した。保存株を含め交配型 α の塩基配列は, 全て同じ配列を示した。一方, 交配型 α は, 5 つの DNA タイプを示し, 貴陽の患者分離株は, 2, 4, 5 のタイプを含んでいた。

中国の内陸部にある貴陽の呼吸器感染症患者から分離された *C. albicans* と極限られた地域の株であったが, チトクローム *b* 遺伝子, リボゾーム DNA の D1/D2 領域の解析結果は, 予想に反して多様性を示した。

P-14 ナショナルバイオリソースプロジェクト「病原微生物」

○矢口貴志¹, 亀井克彦¹, 飯田哲也², 江崎孝行³, 平山謙二⁴

¹千葉大学真菌医学研究センター, ²大阪大学微生物病研究所, ³岐阜大学大学院医学系研究科, ⁴長崎大学熱帯医学研究所

ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) は, 世界最高水準の生物遺伝資源の整備を目標に, 現在各研究者, 研究機関に分散的に保存されている, あるいは, 全面的に海外依存している生物遺伝資源を国家戦略に基づき開発・収集・保存を進めるとともに, ゲノム情報も共に提供する体制を構築する事業である。

「病原微生物」においても, 感染症の重要性が高まる中で, 感染症教育や研究, さらに新しい診断薬や薬剤の研究には, 質の高い病原微生物の菌株が必要であるとの認識から, 体制の整備が進められてきた。

これまでのNBRP事業を通じて, 千葉大学では新興および再興真菌症原因菌を中心に病原真菌, 病原放線菌を, 大阪大学では病原性大腸菌, 腸炎ピブリオを中心とした病原細菌を, 岐阜大学では2種, 3種病原体(ボツリヌス菌, 炭疽菌, 類鼻疽菌, 鼻疽菌, 野兎菌など)を中心とした病原細菌を, 長崎大学では輸入感染症として危ぶまれるマラリア, トリパノソーマ症, リーシュマニア症やアメーバ症など熱帯地方の風土病である原虫感染症の病原体を主として収集, 保存, 提供している。病原微生物は, 他のバイオリソースと異なり, バイオセイフティの面から, その収集と保存には特別な対策が必要で, 各機関は, 厳しい管理体制のもとでの菌株の保存に多くの労力を払っている。さらに, 高度病原性微生物においてはDNAによる保存・提供を検討している。

いずれの機関においても, これまでに培った収集, 保存, 提供体制を進め, 保存菌株には最新の情報を随時付加して高品質化を推進し, 今後いかなる感染症が起っても, それに対応できる病原微生物株コレクションの構築を目指している。

P-15 NBRC 平成 21 年度事業報告

○府川仁恵, 清田純也, 藤田克利, 中川恭好, 鷲坂和美, 鈴木健一朗

(独) 製品評価技術基盤機構 (NITE) NBRC

NBRC は, 微生物を中心とした生物資源の利用環境の整備を推進している。以下に平成 21 年度に実施した事業と実績について報告する。

1. 微生物株のNBRCへの新規登録株数は960株で, 総計24,325株*となった。そのうち公開している微生物株は16,290株*である。

2. 微生物株の分譲は国内6,995株, 海外733株, 計7,728株*であった。

3. 微生物DNAクローンは新たにゲノム情報がDOGAN (Database Of Genome Analyzed at NITE) において公開された *Acetobacter pasteurianus* NBRC 105190, *Deferribacter desulfuricans* NBRC 101012, *Desulfovibrio magneticus* NBRC 104933, *Methanocella paludicola* NBRC 101707 について提供可能とした。現在16株*の微生物DNAクローンを公開・分譲している。

4. ゲノムDNAは, NITEのゲノム解析株や難培養微生物を対象に選定しており, 10株が追加され, 現在28株が提供可能となっている。

5. ヒト関連クローンについては, 現在ヒトcDNAクローン55,399種類, ヒトGatewayエンタリークローン33,275種類を分譲対象として公開している(総数:88,674種類)。

6. DNAリソースの分譲実績は, 微生物DNAクローン3個, 微生物ゲノムDNA30個, ヒトcDNAクローン233個, ヒトGatewayエンタリークローン199個の計465個*であった。

7. ISO9001認証は取得以来3年が経過し, 本年度は更新審査が行われ, ISO9001:2008の認証が認められた。

8. NBRCのホームページは, ユーザーの利便性を考慮してレイアウトの刷新を行うとともに, 学名が曖昧でも検索できるアルファベット順のリストを追加した。また, NBRC Catalogue of Biological Resources 第2版を出版し, メールマガジン「NBRC ニュース」の配信を開始した。

9. アウトカム調査をNITEが行った機会を利用し, NBRCは菌株ユーザーを対象にアンケートとヒアリングを行い, 分譲した微生物株の利用状況やNBRCへの要望などを調査した。

(* : 2月末現在のデータ)