

受賞講演

日本微生物資源学会学会賞

微生物と共に

安藤勝彦

独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC)

1. 難培養微生物の人工培養

農業上重要な植物病原菌にベト病菌, うどんこ病菌, さび病菌がある。いずれも絶対寄生菌と称され人工培養ができない。私は 1976 年に東京教育大学農学部の修士課程に入学したが, 当時の佐藤教授, 勝屋助教授から与えられた修士論文のテーマはこれらベト病菌, うどんこ病菌, さび病菌の人工培養であった。当然ながら修士課程の 2 年間で人工培養が成功するわけではない。大学が廃校となり, 1978 年に筑波大学農林学系の博士課程への編入を許された。実は, 1966 年, Williams らは小麦黒さび病菌 (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) の人工培養に世界で初めて成功していたのであるが, そうであるならばという事で, 両先生からは博士課程ではさび病菌の人工培養に集中するようにとの厳命が下った。その当時考えたのは, いかにも効率よく (手を掛けないで, 手を抜いて) 培養するかという事で, 少々工夫した手法により小麦赤さび病菌 (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*), エン麦冠さび病菌 (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae*) などの人工培養に成功した。後日, Williams 博士からあの方法は効率的でよいと言われ嬉しかった事を思い出す。しかし, 培養して何をするかが実は重要なのである。最終的には, なぜ培養できたかだけでなく, そのパラセクシャルサイクルの存在, それによる無性世代での病原性の変化を明らかにした。

2. 陸棲水生不完全菌類の発見

1981 年 3 月に博士課程を修了すると, 筑波大学生物科学系の椿教授から「さび菌だけでは狭いから, うちに来てもっと勉強しなさい。」と言われ, 椿教授の研究室で準研究員として雇われる事になった。3 年間, 椿教授の下でお世話になったが, 必然的に不完全菌類の研究に導かれた。最も興味を持ったのは, 水に適応した性質を有する水生不完全菌類であった。水生不完全菌類は山間の溪流や湖にいるが, 同じような分子形態, 性質を有する生態群が陸上に棲息する事を明らかにし, 陸棲水生不完全菌類と名付けた。新しい生態群には当然ながら新しい種が発見され, 8 新属 (*Alatosessilispora*, *Arborispora* *Geminoarcus*, *Kodonospora*, *Microstella*, *Scutisporus*, *Trifurcospora*, *Tricladiaella*), 18 新種を報告したが, この生態群への興味は未だに続いている。

3. 有用微生物の探索

1984 年 3 月に協和発酵工業 (株) に入社し, 東京研究所に配属された。研究室は, 当時は, その部屋の主任研究員の名前から川本 G と呼称した。川本さんは *Micromonospora* 属を主とする放線菌の専門家であり, 私も門前の小僧で放線菌を耳学問させていただいた。ここで与えられた仕事は, 野外から菌類を分離し, 培養し, 医薬スクリーニング G へ提供する事並びに特許のための有用菌類の同定であった。日本各地で採集した試料より菌類を分離・培養し, その培養プロセスを (加瀬 G → 松田 G) や (富田 G → 中野 G) などの医薬スクリーニング G へ提供し, その生産する医薬関連有用物質が調べられた。それでも約 20 年弱の間, 47 件の特許を申請するとともに, 関連する 29 報の論文を発表した。

4. 企業のカルチャーコレクション運営

川本 G のもう一つの重要な業務がカルチャーコレクションの運営であった。協和発酵工業のカルチャーコレクションでは 1950 年代から既に凍結乾燥法によって微生物株を保存していた。企業におけるカルチャーコレクションの主目的は, 以下の 4 点である。①各種変異株などの系統保存, ②特許微生物株の保存 (特許株寄託センターに寄託したとしても保存を保証するものではなく, 再度その株の提供を再度求められた場合は, 企業はその株を提供しなければならない), ③公的カルチャーコレクションから購入したタイプ, リファレンス株などの保存 (公的カルチャーコレクションから購入するのであるから再度公的カルチャーコレクションの手を煩わす事の無いように自社で保存する), ④企業内で分離した興味ある微生物株の保存 (現在は, その有用性がわからなくても微生物の特殊性から保存する価値があると判断された株)。当初は, 菌類関係の保存に関与させて貰っていたが, 1991 年に主任研究員となってからは, 協和発酵東京研究所のカルチャーコレクションの全体を担当する事になった。当時約 3 万株の微生物株を対象にその保存, 補充, 提供 (基本的には社内限定) を行っていたが, 実質 2 名の研究補助職の方に頼りっきりであり, 企業のカルチャーコレクションの大変さを実感した次第である。また, その実感は, 1994 年 8 月, バンクーバーで開催された第 5 回国際菌学会シンポジウムにおいて,

“Significance and Sufferings of Private Culture Collection in Company”の題目で吐露している。また、従来のカードによる各菌株の管理をデータベース管理に変更したのもこの頃であった。

5. 生物多様性条約・アクセスと利益配分問題への取り組み

1993年に発効した生物多様性条約（CBD）、特にアクセスと利益配分（ABS）に関する問題は、微生物資源を扱うものにとっても大きな関心事となった。特にカルチャーコレクション運営には大きな影響があるものと考えられ、1998年にはいち早く日本微生物資源学会の場で警鐘が鳴らされた。2000年のCBD-COP5を皮切りにCBD締約国会議、ABS作業部会、ABS専門家会合に出席し、その動向について研究雑誌や講演会（例：日本微生物資源学会第17回大会シンポジウム）を通じて広く伝えてきたが、2010年10月に名古屋の国際会議場で開催された生物多様性条約第10回締約国会議で「生物の多様性に関する条約の遺伝資源へのアクセス及びその利用から生じる利益の公正かつ衡平な配分に関する名古屋議定書」が採択され、生物遺伝資源に対する新しい理解が要求されている。そして、名古屋議定書の発効により、カルチャーコレクション運営はその根底から変更を余儀なくされるものと考えられ、既に名古屋議定書に署名をしている日本としても、早急にその対応を迫られている。なお、CBD-ABSの問題については、下記の参考文献をご覧ください。

6. アジアにおける微生物の保全と持続的利用

2004年3月に協和発酵を退職し、2004年4月から（独）製品評価技術基盤機構（NITE）に採用された。実は、それ以前の2000年からNITEの技術顧問をしていたのであるが、生物多様性条約に則ったアジア諸国における微生物の保全と持続的利用に関するプロジェクトを模索していた。2000年8月からインドネシアと交渉を開始したが、2002年3月に「微生物資源の保全と持続的利用に関する共同研究プログラム」を継続して行うための覚書（MOU）が締結された。そして、それを実行するべく「インドネシアにおける菌類と放線菌の分類学的及び生態学的研究」に関する

共同研究プロジェクト合意書（PA）が2003年4月に締結された。2003年から2008年の6年間、インドネシアの微生物探索を行った。インドネシアの13地域から約2500株の菌類を分離・保存し206属を、約500株の酵母類を分離・保存し18属を、約3200株の放線菌を分離・保存し64属をそれぞれ記録した。ベトナムとは2004年3月にMOUならびにPAを締結した。2004年から現在も続いているベトナムでの微生物探索であるが、現在までに約1800株の菌類を分離・保存し93属を、約1900株の放線菌を分離・保存し56属をそれぞれ記録している。モンゴルとは2006年6月にMOUならびにPAを締結した。2006年から現在も続いているモンゴルでの微生物探索であるが、現在までに844株の菌類を、1137株の放線菌を、563株の細菌を分離・保存し、同定解析中である。これら微生物株はNBRCのRDカルチャーコレクションを通じて日本の企業や大学に広く提供している。なお、インドネシアにおいては放線菌の9新種と菌類の5新種を、ベトナムにおいては放線菌の2新種を、モンゴルにおいては放線菌の1新属4新種を報告している。今後もアジアを中心とした微生物目録作成に貢献したいと思う。また、それら微生物から産業化に繋がるような有用な微生物を見いだしていただきたいと願っている。

CBD-ABS 関連参考文献

- 1) 21世紀へ向けてのカルチャーコレクション運営。日本微生物資源学会誌14(2):72-78(1998)。
- 2) 生物多様性条約におけるアクセスと利益配分の国際ルール。日本医真菌学会雑誌47(2):53-56(2006)。
- 3) 生物多様性条約第9回締約国会議—アクセスと利益配分（ABS）に関する議論を中心として—。日本微生物資源学会誌24(2):117-124(2008)。
- 4) 新しい微生物資源を求めて①NITEの海外微生物探索：インドネシア編。生物工学会誌87(6):298-299(2009)。
- 5) 新しい微生物資源を求めて①NITEの海外微生物探索：ベトナム編。生物工学会誌87(7):352-353(2009)。

受賞講演

日本微生物資源学会奨励賞

温泉、海洋環境等からの難培養性新規微生物の探索とその資源化に関する研究

飯野隆夫

理研 BRC-JCM

分子生物学的手法の発達により様々な微生物生態が解明されている。その一方で、それら環境に棲息する微生物の多くは分離・培養に至らず、その生理機能や生態的役割などは遅々として解明されない。近年ではメタゲノム解析やシングルセル・ゲノミクスなどの開発・進歩により、難培養性微生物の生態的役割・生理機能が議論されつつあるが、鋳型となるゲノム資源の維持が困難であるため、継続して研究・開発する上での大きな障壁となる。すなわち、永続的に微生物を有効利用するためには、微生物を培養可能にし、安定して保存・維持することが最善の方法といえる。一般に、難培養性微生物には培養不可能な微生物と分離・培養の困難な微生物に大別され、後者には資源化の余地を多分に含んでいる。難培養性微生物を培養可能にすることは、応用研究の重要な微生物資源となるだけでなく、新たな難培養性微生物を獲得する上での有益な情報となり得る。そこで、本研究では、温泉および海洋環境を中心に新規の難培養性微生物を探索し、資源化することを目的とした。

【難培養性微生物の探索】2003-2007年に、日本各地から温泉熱水、バイオマット、海洋棲生物などを収集した。集積培養もしくは寒天培地に塗抹・培養した後、309株の新規微生物（古細菌、細菌）を純粋分離した。分離株の1/3に相当する103株は既知種との16S rRNA 遺伝子の相同性が95%以下、1割強の37株に至っては90%以下であった。また、高次分類群レベルで分類すると、分離株は14門に属し、多様かつ新規性の高い微生物を分離できたと考えられた。これら分離株のうち25株を詳細に解析し、現在までに1綱1目1科7属18種の新規提唱を行なった。以下に、一部の分離株について記述する。

【温泉環境からの新規微生物】長野県の湯俣温泉郷で採取した黄色と緑色のバイオマット（37°C）から分離したMat9-16株は、3ヶ月の培養を経てコロニー

化に至り、その後純粋分離に成功した。本菌株は系統的に*Chlorobi*門に含まれたが、本系統群に唯一属する緑色硫黄細菌（GSB）との16S rRNA 遺伝子の相同性は77.4-82.7%と極めて低く、未培養系統群ZB1に含まれた。既存のGSBは細胞が緑もしくは茶色の光合成細菌で構成されると定義されている。しかし、Mat9-16株は細胞が白色で、光合成能はなく、光補修系に関与する遺伝子を一切保持しなかった。Mat9-16株はGSBと全く異なったことから、Mat9-16株に対し新属新種*Ignavibacterium album*を提唱した上、Mat9-16株を含む未培養系統群ZB1に対し新綱*Ignavibacteria*綱を設けた。温泉環境からは、この他に好熱性の*Calditerrivibrio nitroreducens*や*Meiothermus hypogaeus*などの新規細菌を新規提唱した。

【海洋環境からの新規微生物】島根県神西湖で収集したヤマトシジミの消化管から分離したSjm18-20株は1ヶ月以上培養を継続した後にコロニー化に至り、純粋分離に成功した。Sjm18-20株は系統的に難培養性微生物*Oscillospira*属のクローンクラスターに含まれた。偏性嫌気性、グラム陰性、細胞が30 μmまで伸長したなどの特徴は*Oscillospira guilliermondii*の特徴と類似したが、孢子形成や隔壁様の仕切りは観察されなかった。*O. guilliermondii*の培養株が実在しないため、Sjm18-20株を*Oscillospira*属に含めるか否か結論できなかったが、現時点では独立した属として提唱することが妥当であると結論した。そこで、Sjm18-20株に対し、新属新種*Oscillibacter valericigenes*を提唱した。海洋環境からは、この他に酢酸資化性メタン生成古細菌*Methanosaeta pelagica*や乳酸菌*Lacticigenium naphatae*などを新規提唱した。

以上、本研究では、未培養系統群の微生物を含む難培養性微生物を資源化したことで、それらの形態学的特徴や生理機能を明らかにした。

受賞講演

日本微生物資源学会奨励賞

Chloroflexi 門に属する放線菌様細菌 *Ktedonobacteria* 綱の特徴

矢部修平

株式会社県南衛生工業ハザカプラント研究所

堆肥及び地熱地帯から *Firmicutes* 門, *Actinobacteria* 門, *Proteobacteria* 門, *Bacteroidetes* 門及び *Chloroflexi* 門に属する種々の新規好熱菌を分離した。その中で特に *Chloroflexi* 門に属する分離株の形態や性質がユニークであったため、本講演ではその特徴について述べる。

Chloroflexi 門 *Ktedonobacteria* 綱に属する提唱されている培養株はイタリアの土壌から分離された *Ktedonobacter racemifer* のみであり、形態についての詳細な記述は少なく、その特徴は不明であった。筆者らは *Ktedonobacteria* 綱に属する細菌を弊社の堆肥 (SK20-1 株) と鬼首温泉地熱地帯 (ONI-1, ONI-5 株) から分離した。これらの株の系統解析結果から、SK20-1 株は *Ktedonobacterales* 目に属する新科・新属・新種 *Thermosporothrix hazakensis* として提唱し、ONI-1 株と ONI-5 株は新目 *Thermogemmatissporales*, 新科 *Thermogemmatissporaceae* に属する新属・新種 *Thermogemmatisspora onikobensis* 及び *T. foliorum* とする事を提唱した。

これらの株は *Chloroflexi* 門に属する細菌の一般的性質とは異なり、グラム陽性を示し、好気性であり (*Ktedonobacter racemifer* は微好気性)、胞子を形成した。また、*Thermosporothrix* と *Thermogemmatisspora* は生育速度が速く、扱いが容易であった。さらに、これらの株は目レベルで系統が異なるにも拘わらず共通して分岐した気菌糸を形成し、そこに胞子を着生する典型的な放線菌様の形態を示した。また、その胞子形成過程を詳細に観察した結果、気菌糸内の1つの母細胞から複数の胞子を出芽によって形成する事が明らかとなった。このような胞子形成様式は原核生物では初めての例である。このように放線菌門とは異なる系統で、綱レベルで広く共通に放線菌様の形態を示す事は

形態進化の観点からも重要な基礎的知見である。

これらの分離株はセルロースやキシラン、キチンに対して強い分解性を示し、さらに、SK20-1 株は広く細菌に対して抗菌性を示した。

SK20-1 のゲノムをドラフト解読した結果、サイズは 7.3 Mb, ORF 数が 6,391 個であった。なお、同系統の *Ktedonobacter racemifer* のゲノムサイズは約 13 Mb, ORF 数は 13,273 個であり、サイズは報告されている細菌では最も大きい事が報告されている。また SK20-1 株の遺伝子中には抗生物質生産に深く関与するとされるポリケタイド生合成酵素や非リボゾーム型ペプチド合成酵素の相同遺伝子が複数存在し、その相同遺伝子は粘液細菌や藍藻類と最も高い 32-58% の相同性を示した。粘液細菌は抗菌性や抗腫瘍性を示す難培養細菌として知られており、易培養性で抗菌性を示す SK20-1 株から相同遺伝子が検出された事は興味深い。その他の特徴として多種多数の糖質加水分解酵素ファミリー (GHs) が存在し、その中でセルラーゼ遺伝子は GH5, 6, 9, 12, 48 が検出された。既報の GH5, 6, 9, 12, 48 を併せ持つ微生物はほとんどが放線菌である。GH5, 9, 12 については大腸菌にて発現させ、それぞれが特徴のある性質を有する事を確認している。

放線菌の多くは様々な抗生物質を生産し、繊維質に対して分解性を示す事から産業微生物と呼ばれているが、近年では多くの研究者が探索源としたため放線菌からの新規化合物発見頻度が低下している。放線菌のような複雑な形態分化と生理活性物質生産能には相関性がある事が指摘されているため、放線菌と形態が似ている *Ktedonobacteria* 綱に属する系統が抗菌性を示し、繊維質分解能を示した事は、放線菌に継ぐ新しい有用な微生物資源となり得る可能性を示唆している。

シンポジウム

基調講演 微生物試験法の合理的バリデーションの鍵となる生菌標準物質

松岡英明

東京農工大学大学院工学研究院生命機能科学部門

国内外の全ての微生物標準法はコロニー形成法に基づいている。しかし、微生物細胞が「コロニーを形成する」と「生きている」とは必ずしも等価ではない。そして、この問題が、微生物試験法のバリデーション、国際的ハーモナイゼーション、そして不確かさの推定、などの多くの議論における誤解や混乱の原因となっている。この問題を解決する鍵になると期待されているものが微生物生菌の標準物質であり、近年の単一細胞分離・解析技術の進展により、漸く、現実的な取り組みがなされるようになってきた。

微生物細胞を一個ずつ単離し、培養し、それが分裂を繰り返して、やがてコロニーになるまでの過程を連続観察することが、比較的容易にできるようになった。例えば、出発時点では同じように見える細胞でも、一定時間後に形成されるコロニーの大きさは必ずしも同じにはならない。また、出発時点で1個の細胞の場合と、2個の細胞の場合とで比較してみると、一定時間後に形成される両者のコロニーの大きさが必ずしも区別できない。何故かマイクロコロニーの段階で成長が止まったかに見えるコロニーも少なからずある。こうした現象は、従来からよく経験されてきたことではあるが、その要因の定量的分析が、今、当に要請されている。それが、均質なコロニー形成能を有する細胞を *in situ* で調製、選別する方法を開発するための第一歩と考えられる。

一例として、生菌蛍光染色技術とセルソーターを組み合わせる方法により、100個の細胞をソーティングして95個以上のコロニー形成が得られる条件が見出されている。まだ十数株ではあるが、細胞の状態の違

いを高解像度で識別しながら選別する原理に、大きな可能性を感じる。また、操作段階で用いる培地の種類も重要で、当初、コロニー形成率が極めて低かった *Pseudomonas aeruginosa* (NBRC 12689) が、培地条件等を改善することによって、他の菌と同様の95%以上のコロニー形成率を示すようになったことも、この方法論の発展性を期待させる。

実用的には、生菌標準物質は保存できることが望ましく、どの菌株についてもそれを可能にすることが生菌標準物質開発の最終目標である。現時点では、わずか8株に限られてはいるが、そうした保存型の例が知られている。しかし、今のところ他の菌株への適用は難しそうである。細胞の凍結・融解の過程で細胞が受ける影響について、細胞集団の平均値としてではなく、一個の細胞空間の中で何が起きているかを、時空間的に高い肺臓度で調べることが必要と思われる。カルチャーコレクションの品質確保のために、これまでに蓄積されてきた技術やノウハウの中に、その解決の手掛かりがあるのではないだろうか。

生菌標準物質が開発できれば、例え、第一段階のレベルでも、その波及効果は極めて大きい。何よりもコロニー計数法の基盤となっている培地の性能を定量的に比較することができる。その結果、異なる培地を使う試験法の比較も合理的にできるようになるはずである。また社会的ニーズの大きい迅速法も、観測視点の異なる培養法と無理に比較する必要がなくなる。これらの成果は、国際的な先導技術として、国際基準・規格に反映され、その結果、社会的、行政的に多大な貢献を成すことになると考えている。

S-1 計測と標準物質

—物理計測，化学分析，そして微生物計測へ—

高津章子

独立行政法人産業技術総合研究所計測標準研究部門

長さ，温度，有害物質の濃度など，生活や産業の至る所で種々の計測が行われている。これらの整合性を確保し，異なる測定器による測定結果を比較可能にするのが単位の統一であり，ものさしとなる計量標準である。経済活動のグローバル化に伴って，計量標準については，国際整合化を目指した活動も進んでいる。これらの活動は，物理計測や化学分析からバイオ計測へと広がってきており，微生物計測へ向けての議論も始まりつつある。今後，微生物計測においても標準物質整備が求められていくことを踏まえて，本講演においては，標準物質開発に必要な要件などについて，化学分析における標準物質開発での経験をもとに紹介したい。

標準物質は，「一つ以上の特性値が確定されている均質な材料または物質」と定義される。すなわち，何らかの「特性」が定められているものである。標準物質の用途は大まかには，装置応答を求める値へ変換する校正と，測定や測定結果の評価・確認の二つである。

通常，共通的な標準物質の設定は，計測がある程度成熟し，比較同等性が必要とされてから実施される。また，標準物質の値付けは，計測により行われることが多いため，計測と標準物質は不可分の関係である。標準物質の設定のポイントと考えられる点を以下に示す。(1) から (4) により標準物質の設定と測定の比較同等性は実現可能であり，さらに (5) が可能であれば，普遍的な形での標準化が実現する。また，(6) の展開を視野に進める必要がある。

(0) 標準化へ向けての関係者の合意

(1) 測定対象の定義の明確化

同じ名称の物質であっても，定義が明確でなかったり，混合物であったりするために，異なる測定方法において測定対象が異なる，などは化学分野でも時々ある。

(2) 利用される測定方法のリストアップおよび分類

特定の測定方法にのみ用いるのか，あるいは，異なる方法に適用するのかにより，標準物質の値付け方法も異なる。前者であれば，測定方法を固定した値付けを実施し，後者であれば，標準物質の値付けに利用する方法の選定が必要になる。

(3) (2) における測定操作法（プロトコル）の決定
特に，測定条件によって結果が異なる場合には，プロトコルを決定しなければ，標準化は困難である。

(4) 標準物質に必要とされる性質の確認とそれらを有する材料の確保

標準物質としての性能を維持するためには，安定性や均質性が不可欠である。一方で，測定の性質によっては，マトリックスや共存物など試料の性状について必要事項がある場合がある。また，実際の測定試料との反応性に注意が必要なケースもある。

(5) 高位の校正用標準や標準測定法の設定と計量学的トレーサビリティの確立

測定の性質により，上位の校正用標準が必要であったり，普遍性が高い標準測定法が設定できる場合には，高位の標準をもとに，実用的な標準を設定するという，計量学的トレーサビリティの確立を行う。

(6) 国際整合化などへの展開

S-2 MALDI-TOF-MAS を使った GTC 株の病原性因子保有株の品質保証へ向けた取り組み

○江崎孝行, 林 将大, 水野卓也, 大楠清文

岐阜大学医学部病原微生物遺伝子資源保存センター

病原細菌株の分譲依頼株に要求される項目は多岐にわたり, 品質管理には多大の負担がかかる。血清型, 遺伝子型, フェージ型, 生物型, 薬剤耐性などの情報のほかに病原性因子の保有の有無, あるいは実際に動物に対する病原性のあると菌株を利用さす側の要求は多岐にわたる。これらのすべての項目に答えられる品質を保証して株を提供することは日常業務としては難しい。

従来, 菌株を準備する側としては一つの項目に関して最適な株を選択し, その情報を担保した株を供給してきた。例えば血清型は保存期間中に LPS が欠損しラフに変異する自己凝集株になることがしばしばあるため, 少なくとも特異血清に凝集する株だけを選択し分譲してきた。最も困難なのが病原因子の検証である。分譲依頼があるごとに病原性を保持した株を担保するのは不可能に近い。病原因子がプラスミッド上にある場合, プラスミッドはしばしば脱落するので病原遺伝子の PCR 解析で対応できるが, 部分配列の脱落など予期しない事態がしばしば発症する。

菌株の分譲にあたってまず分譲株の菌種の担保が必要になる。この担保にはこれまで 16S rRNA 配列を測定してきたが, ゲノム配列情報が蓄積するにつれ 16S rRNA 情報では病原菌と類縁菌を明確に識別できないことがわかってきた。ゲノム配列情報が蓄積するにつれ, 属内のどの菌種も保有する共通遺伝子である house keeping genes (HKG) を多数使って解析する方法が台頭してきた。しかし HKG には 16S rRNA 配

列のような共通配列が少なく, 全ゲノムシーケンスの手法を使わなければ完全長の遺伝子を得ることができない。

ゲノム解析の蓄積とともに最近では MALDI-TOF-MAS を使って細菌の全タンパクを簡単な手法で測定できるようになってきた。我々は菌種の同定には MALDI-TOF-MAS 解析で種に保存されているリボゾームタンパク配列を利用して同定を行い, 個々の菌株が保有する病原因子タンパクシグナルを検出することで株の持つ, 特性を調べる方向にシフトしている。

菌種の同定は MALDI-TOF-MAS の解析では簡便化されており, コロニーから簡単に株の特異タンパクを数分で検証できるため, 今後の有力な品質管理ツールになると考えている。

一方, 病原性因子の発現は培養条件によって大きく異なる。

多彩な菌種の病原性因子の発現解析には 2 つの条件が必要になる。1 つは病原因子を最もよく発現する培地の選択と培養条件, 2 つ目はゲノム情報側からの情報整理である。タンパク毒素であれば菌株ごとの病原性因子の多型をデータベースに登録しておく必要がある。そのためには報告記載されたゲノム情報を蓄積し, 保有株の MALDI-TOF-MAS パターンのデータ取得とその照合作業データを蓄積させる。

今後は GTC 株の病原性因子の品質保証をこの MALDI-TOF-MAS の解析法で推進していくので, 我々の取り組みを紹介したい。

S-3 菌株保存機関と試験室とのかわり

馬場 浩

財団法人日本食品分析センター九州支所微生物部試験室

微生物試験を行う試験室において、由緒ある微生物株を用いて性状の比較を行うことや、様々な規格で定められている標準微生物株を用いて試験を実施することは「当たり前」な状況となっている。保存状態が良く、変異も認められず、分類学的に正しく同定された菌株が提供されることが試験を実施する上で必須の条件となっている。したがって、菌株保存機関から分譲される微生物株に対する信頼は必然的に高くなるとともに、このことが試験を実施する上で大前提となっている。私どものような分析試験受託業務を行う機関に限らず、微生物を扱う試験室の立場から、現状と微生物菌株保存機関への要望について述べてゆきたい。

過去から現在まで

今から10数年前まで、私どもでは性状試験や菌体成分の化学分析を中心とした同定試験を実施していた。属を確認する場合でも種を確認する場合でも、必ずといってよいほど対照菌株と同時に試験した関係で、当時は微生物株を菌株保存機関から入手していた。その後、同定試験は伝統的な試験法から塩基配列の解析へと移行してしまった為、対照微生物菌株を用いて比較・検討しながら試験を実施することは少なくなった。これは微生物を扱う人間としては非常に寂しい限りである。

最近では、カビ抵抗性試験、抗菌性試験、細菌除去性能試験といったJIS規格に則って標準微生物株を用いた試験を実施する場合や、日本薬局方(JP)、European Pharmacopoeia(EP)やThe United States Pharmacopoeia(USP)などの微生物限度試験法や無菌試験法に用いる培地性能試験及び手法の適合性試験を実施する場合に、標準微生物株の分譲を依頼する事例が多くなっている。また、昨年のお-111、O-146の食中毒事件のように、食衛法で試験法が指定されていない有害微生物が検出され、試験法の妥当性を検討する上で菌株が必要となることがある。各菌株保存機関に打診して、当該微生物菌株の保有の有無と分譲の可否を伺うことも多くなってきた。このように、最近では規格等によって指定された微生物株の分譲依頼と突発的な事件・事故に対応する為の菌株分譲依頼が増えていく。

規格とのかわり

日本薬局方においては国際的なハーモナイゼーションが進められ、JP、EPやUSPいずれにおいても欧

米各国、日本国内にある指定された菌株保存機関からの微生物株入手が可能となり、菌株の入手が容易になった。これは海外から菌株を購入する際の手続きの煩雑さの解消や、注文から微生物株の到着までの期間の短縮、輸入有害菌(植物病原菌等)の規制にも影響されることがほとんどない為、試験室としては大いに助かっている。

JIS等の規格の試験法に従うものの、指定された菌株に加えて指定以外の微生物株を使用・追加する事例も増えている。この場合は、様々な微生物が対象となるので、菌株保存機関においては多種多様の微生物株を保有していることが望まれる。微生物株を利用する試験においてはまだまだ様々な微生物株のニーズが存在している。

今後の展開と要望

試験に用いる微生物株の変異は試験室(者)がいち早く見つけることができるものの、この件に関するクレームは当然のことながら菌株保存機関に入る。しかし、試験室の立場から容易に変異しやすい微生物株を標準微生物株とし続けることは管理を行う上で手間がかかり好ましいこととは思えない。試験室、規格、菌株保存機関の三者が協力し、規格を定める機関は試験に用いる菌株に関してより良い菌株を探索し改善に心がけ、菌株保存機関が菌株を適切に保管・管理し、試験室は管理された良好な微生物株を使用するとともに、菌株のチェックを行うことで、微生物株を末永く資源として確保できるのではないかと。

分類学においては毎年新たな属や種が多数報告されている。微生物を利用する立場としては新属新種が報告されることには異存はないものの、現実の問題として、新規に報告された微生物に関する情報が乏しく特徴を判断するのに苦慮することが多い。基礎的な内容ではあるが、多数の菌株を保有する菌株保存機関と試験室とのコラボレーションで生育条件、耐熱性等の試験を行い情報が共有できるとよいと思う。

真菌の世界では統一命名法への移行期限が平成25年1月1日と迫っており、学名の変更に対して菌株保存機関がどのように対応するか利用する立場として非常に興味深く見守っている。過去の学名と新規の学名が容易に検索できるようリストの作成がなされ、利用する側の利便性が図られることを願う次第である。

S-4 カルチャーコレクションにおける品質管理—NBRC 細菌株を例として—

○中川恭好, 村松由貴, 宮下美香, 杉本昌子, 吉野真由美, 鎌倉由紀, 鈴木健一郎

独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC)

菌株ユーザーの方々が、カルチャーコレクションから供給される菌株に求める品質は、主には (1) 生存していること、(2) 学名の正しさ、(3) 菌株の正しさ、(4) 性質の正しさ、の 4 つであると思われ、コレクションの従事者はこれらを担保するために、保存標品の品質管理を行っている。ここでは、NBRC 細菌コレクションで行っている品質管理の実際とその限界について紹介したい。

(1) 生存していること

保存標品を作製したら生残性試験を行う。その際、L-乾燥標品については長期保存に耐えるかどうかの検査として加速保存試験を実施している。また、NBRC では、事故などで菌株を失うことのないよう、少なくとも 2 種類の方法で菌株を保存している。細菌やアーキアでは、永久保存用標品 2 本を液体窒素タンクに保存し、もう 1 種類の方法として -80°C 凍結あるいは L-乾燥標品として保存する。また、各菌株について 1 標品を、仙台にある東北支所に保管し、災害等からの危険分散を図っている。

(2) 学名の正しさ

原核生物では 16S rRNA 塩基配列に基づく分類体系が確立しており、16S rRNA 塩基配列は菌種の同定に必須の情報となっている。NBRC では、すべての細菌、アーキア株について 16S rRNA 塩基配列決定して学名の確認を行っており、決定したデータは、NBRC オンラインカタログや DDBJ から公開している。新しく寄託される株については、寄託者から 16S rRNA 塩基配列データの提供を受け、その配列との同一性を確認している。しかし、16S rRNA 塩基配列は学名決定の必要条件ではあるが、種レベルでの同定には十分でないことの方が多く、類縁種を識別できない場合があることが欠点である。酵母と糸状菌では、rRNA LSU の D1D2 領域と ITS の決定を行い、これらの配列情報は NBRC のオンラインカタログに掲載しており、ユーザーの品質管理にも利用可能である。

(3) 菌株の正しさ

昨年より菌株の迅速同定に有効な MALDI TOF-MS を品質管理に導入した。MALDI TOF-MS による学名確認を行うと共に、保存・分譲用標品作製時には、標品作製前と後でのマススペクトルの一致や、前回測定データとの一致を確認し、作業による菌株の入れ替わりがないことを確認している。MALDI TOF-MS では 16S rRNA で識別困難な種も同定できるが、同定データベースに登録されている菌種が限られていること、培養時間などの影響でマススペクトルが変わる場合があることが短所である。NBRC では市販のデータベースだけではなく、独自にライブラリーを構築して内部の品質管理に利用している。

(4) 性質の正しさ

菌株によっては、特定の性状や物質生産性などの性質を示すことが求められるが、たとえ菌株に間違いがなくとも、保存している間に性質が変化することも起こりうる。薬局方の特定微生物試験では、特定の培地上でのコロニーの色などの性状が重要な指標となっている。物質の変異原性を検査する Ames 試験では *Salmonella* 等の菌株が用いられ、これらの菌株では、薬剤耐性、紫外線感受性、栄養要求性、膜変異特性などの性状が求められる。現在、NBRC では各種微生物試験で必要とされる性状を菌株が保持しているかを検査し、その情報を公開することを計画している。また、寄託者やユーザーにより報告されている菌株の物質生産性なども重要な性質であるが、その検出に特定の技術が必要な場合は確認が難しいのが現状である。

カルチャーコレクションには、多様な微生物が保存されているが、検定菌、分類学的基準株など、その使用目的によって求められる品質が異なる。それぞれの目的に応じて適切な品質管理を行い、その情報を提供するのにもカルチャーコレクションの重要な役割である。

一般講演

O-1 パーライトプロトコールによる担子菌培養株凍結保存法の紹介とその改良の報告

○佐藤真則¹, 資延淳二¹, 中桐 昭²¹ 独・製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター, ² 鳥取大学農学部附属菌類さのこ遺伝資源研究センター

担子菌は古くから食品としてはもちろんのこと, 近年では医薬品やバイオマス変換への利用といった様々な産業上有用な生物資源として知られているため, これらを安定に保存することは非常に重要である. 担子菌培養株の多くは菌糸をプレートで生育した寒天ごと切り出し凍結保護剤に浸漬させて凍結するディスク凍結法によって保存が可能であるが, 中にはこの方法では凍結保存出来ないものが数多く存在する. 近年 Homolka らにより, パーライトという多孔性担体を使用して, 主に腐朽性担子菌を凍結保存する方法が報告されていた. このオリジナルパーライト法はパーライトと5%グリセロールを含む液体培地を入れたクライオチューブで担子菌を直接培養した後, 液体窒素タンクで保存する方法である. 我々はこの方法を彼らが使用した株よりもより凍結感受性の高い菌根性担子菌を中心に適用するとともに, より多くの担子菌に利用できるような改良を試みている. これまでのところ7種12株の凍結感受性菌根菌に対してこのパーライト法を適用することで, 凍結融解処理に対する半年後の生残性が12株のうち1株で60%, 残りの11株で100%であったこと, また, 凍結保護剤の添加時期と濃度を検討した結果, 培養後に凍結保護剤を添加しても浸漬時間を48時間以上とすることでその保護効果が得られたこと, さらに, オリジナル法では増殖阻害が起こる濃度 (final 12%) のグリセロールを培養後に添加することで60%の生残性を100%に改善することが出来たことを報告するとともに¹⁾, この改良パーライト法によって7種12株にさらに5種8株を加えた12種20株について, オリジナル法または改良法を適用することで, 半年後または一年後の生残性がアカハツ NBRC 33156 (20%), 33157 (80%) を除く18株の生残性が100%であったことを報告した²⁾. 今回は引き続き行っているパーライトプロトコールの改良の試みについてこれまでの総括的な方法論として紹介するとともに, 前回の報告ではまだ改善の余地のあるアカハツ NBRC 33156 をモデルとして用いたパーライトプロトコールの改良の試みについて紹介する.

1) M. Sato, J. Sukenobe, and A. Nakagiri. CryoLetters in press

2) 平成23年第55回日本菌学会口頭発表

O-2 *Aspergillus fumigatus* および関連種の分類と薬剤感受性

○矢口貫志, 今西由巳, 松澤哲宏, 田中玲子

千葉大学真菌医学研究センター

Aspergillus fumigatus および関連種において, 複数の遺伝子の塩基配列を決定し系統解析を実施した. その結果, どの遺伝子ともほぼ同様の系統樹を示し, I. *A. fumigatus*, II. *A. lentulus*, *A. fumisynnematus*, III. *A. fumigatiaffinis*, *A. novofumigatus*, IV. *A. udagawae*, *A. viridinutans*, V. 他の菌種がそれぞれ属する5つの菌群に分類された. 当センター保存の臨床分離株の多くはIに含まれたが, 中には, II, IVに属する菌株があった. 各分生子の表面微細構造は, I, Vは刺状突起, II, III, *A. udagawae*は小コブ状の隆起, *A. viridinutans*は中間的な形状を示した. 生育温度は, Iが50°Cでも生育するのに対して, II, IIIは45°Cまで, IV, Vは42°Cまで生育した. 各種抗真菌薬に対する感受性は, *A. fumigatus* s. str. では保存年度別, 分離源別の明らかな傾向は認められずほぼ一定であった. 一方, *A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. viridinutans*は, アゾール薬特にVRCZに対して高いMICを示し, AMPHに対しても低感受性である傾向を示した. 近年, *A. fumigatus*においてアゾール薬を中心に薬剤耐性株が増加しているという報告があり, 臨床上問題視されている. 本検討から*A. fumigatus* s. str. ではアゾール耐性株の明らかな増加傾向は認められないことから勘案すると, *A. fumigatus*と同定された臨床株の中に関連種が含まれており, それらが高いMICを示すものと考えられる. よって, 正確な菌種の同定の重要性が改めて認識されたとともに, 関連種を含めた本菌のMICの動向に今後も注意する必要がある.

0-3 緑藻ボルボックス目クロロモナス属タイプ種の UTEX および SAG 株の再同定

○松崎 令¹, 原 慶明², 野崎久義¹

¹ 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻, ² 山形大学理学部生物学科

単細胞性緑藻クロロモナス属 (*Chloromonas*, *Cr.*) は、葉緑体にピレノイド (光合成暗反応で CO₂ を固定する RuBisCO 酵素の集中した基質構造) を欠く点で、伝統的にクラミドモナス属 (*Chlamydomonas*, *Cd.*) と区別されてきた。本属は分子系統から多系統性が指摘されたため、クロロモナス属タイプ種 *Cr. reticulata* を含む、伝統的なクロロモナス属およびクラミドモナス属数種からなる単系統群 (クロロモナス系統群) がクロロモナス属と再定義された (Pröschold *et al.* 2001, Protist)。この時、*Cr. reticulata* のエピタイプ凍結保存株 (ピレノイドを欠く) と非常に近縁な、ピレノイドをもつ株と完全に欠く株が同一種 “*Cr. reticulata*” にまとめられた。しかし、同一種とされた株の中で葉緑体微細構造および CO₂ 濃縮機構に関する生理的特性が異なるため (Morita *et al.* 1999, Planta)、分類学的再検討の必要があった。

今回、“*Cr. reticulata*” と同定されていたテキサス大学 (UTEX) とゲッチンゲン大学 (SAG) のカルチャーコレクション保有の合計 9 株を用いて、光学・電子顕微鏡による比較形態解析と 18S *rRNA*・*atpB*・*psaA*・*psaB* 遺伝子および核 ribosomal (*r*) DNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) 領域 (5,278 bp) を用いた分子系統解析を実施した。その結果、栄養細胞の形態、眼点およびピレノイドの微細構造、分子系統によって支持される 4 系統に分かれ、新組合せ *Cr. chlorococcoides* (*Cd. chlorococcoides* 正規株 SAG 15.82 を含むピレノイドをもつ単系統群)、*Cr. reticulata* (*Cr. reticulata* エピタイプ凍結保存株 UTEX 1970 を含むピレノイドを欠く単系統群)、*Cr. rosae* (正規株 UTEX 1337)、新組合せ *Cr. typhlos* (“*Cr. reticulata*” UTEX 1969) の 4 種に再分類することが妥当と考えられた。これら 4 種の独立性は核 *rDNA* ITS2 二次構造の比較 (Coleman 2009, Mol. Phylogenet. Evol.) から支持された。

0-4 緑藻培養株に感染していたリケッチア科新規細胞内共生バクテリア “MIDORIKO”

○川船かおる¹, 本郷裕一², 浜地貴志³, 野崎久義¹

¹ 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻, ² 東京工業大学生命理工学部生体システム専攻, ³ 京都大学大学院理学研究科生物科学専攻

植物におけるバクテリアの細胞内共生は、根粒菌に代表される窒素固定細菌に関する研究が盛んに行われているが、他の材料を用いた例は少ない。緑藻ボルボックス目においては、Kochert & Olson (1970, Trans. Am. Micros. Soc.) が *Volvox carteri* から細胞内バクテリアを報告して以来、培養株の存在する 4 種において形態学的研究により細胞内バクテリアが観察されているが、分子系統学的研究は行われていなかった。我々は、これらボルボックス目における細胞内バクテリアの同定及び共生進化の解明を行うべく研究を実施している。

今回我々は、単細胞緑藻 *Carteria cerasiformis* NIES-425 及び群体性緑藻 *Pleodorina japonica* NIES-577 の細胞内バクテリアに対し 16S *rRNA* 系統解析と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) による分子同定を行い、これらが共にホストの細胞質内に存在し、リケッチア科 (Rickettsiaceae) に位置することを示した。偏性細胞内寄生菌であるリケッチア科は自然界では昆虫やダニ等の節足動物が主な宿主であり、ヒトへの転移により重篤な感染症をもたらす病原菌を含む。植物の共生関係は 1 例のみ疑われていたが (Davis *et al.* 1998, Curr. Microbiol.) 直接の証拠はなく、今回初めて植物細胞中におけるリケッチア科バクテリアの存在が明らかとなった。緑藻 2 種由来の細胞内バクテリア (愛称 “MIDORIKO”) は互いにごく近縁であり、ホストの *C. cerasiformis* NIES-425 に近縁な *Carteria* 4 種 9 株では “MIDORIKO” の存在が確認されなかったため、バクテリアの緑藻への侵入はボルボックス目の共通祖先においてではなく、それぞれの系統で独立に起こった現象であると推測される。

単細胞緑藻 *Carteria cerasiformis* NIES-425 では、宿主である *Carteria* は “MIDORIKO” を保有していても正常に増殖し、バクテリアは宿主細胞内に恒常的に存在していることが確認できた。“MIDORIKO” は宿主に悪影響を及ぼさずに共生しており、*Carteria* の増殖時、もれなく娘細胞に受け継がれていると考えられる。

培養や扱いが簡便な緑藻培養株からリケッチア科のバクテリアが発見されたことにより、リケッチア病原菌の感染メカニズムや、リケッチア科に近縁なバクテリアの細胞内共生に起源を持つミトコンドリアの初期共生進化プロセスの研究に寄与することが期待される。

0-5 対馬のせんだんご製造工程における微生物叢

○熊谷浩一¹, 田中尚人², 佐藤英一¹, 岡田早苗¹

¹東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科, ²東京農業大学応用生物科学部菌株保存室

【目的】長崎県・対馬地方にはサツマイモから製造される食品加工素材である「せんだんご」がある。せんだんごは冬季に約2カ月かけ、浸漬や発酵など数段階の工程を経て、多種多様な微生物がサツマイモデンプンを発酵させることで特有な物性が生じる。しかし、その物性の変化に関与する主要な微生物は明らかとされていない。せんだんごの製造工程に着目すると、各地域によって、浸漬中の水の管理や発酵中の保温状態などに相違点がある。そこで各地域における菌叢やデンプン分解微生物を調査することで、せんだんごの製造に関与する主要な微生物を明らかとすることを目的とした。

【方法・結果】試料は、2008年～2011年に浸漬や発酵の工程から計22試料を採取した。各試料より、直接培養法、またサツマイモデンプン含有培地を用いた直接培養法・集積培養法により一般細菌、酵母、カビの生菌数測定及び分離を行った。分離株をサツマイモデンプン含有培地にて培養後、ヨウ素添加によるハロ形成試験によりデンプン分解微生物を選抜し、微生物の同定を行った。さらに、薄層クロマトグラフィー (TLC) により、各種デンプン分解微生物のデンプン分解パターンを確認した。

生菌数測定の結果、一般細菌は全工程において、 $10^7 \sim 10^8$ CFU/g、酵母は $10^2 \sim 10^4$ CFU/g、カビは浸漬の工程では確認されず、発酵工程において $10^4 \sim 10^8$ CFU/gであり、各地域の製造工程において同様な結果を示した。各種微生物を分離し、デンプン分解微生物として一般細菌76株、カビ142株を選抜した。これらの16S及び18S rDNA塩基配列に基づく同定の結果、一般細菌においては主に *Paenibacillus* 属や *Bacillus* 属、カビにおいては主に *Penicillium* 属や *Mucor* 属であった。また、TLCの結果、分離株のカビと一般細菌ではデンプン分解パターンは異なる傾向が確認されたが、その地域差は確認されなかった。例年異なる地域においても、同様なデンプン分解パターンを示す微生物の生息が確認されたことから、これら微生物がせんだんご製造におけるデンプンの特有な物性変化に関与していることが示唆された。

0-6 新規“*Dehalococcoides*”細菌 UCH007 株の分離と性状解析

○内野佳仁¹, 山副敦司¹, 森 浩二¹, 福永幸代¹, 井上佳男¹, 高畑 陽², 伊藤雅子², 福田雅夫³, 鈴木健一朗¹, 藤田信之¹

¹独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC), ²大成建設株式会社, ³長岡技術科学大学

テトラクロロエチレン (PCE) やトリクロロエチレン (TCE) などの塩素化エチレン類による環境汚染が土壌や地下水など広範囲に及んでいるが、より有害性の高いジクロロエチレン (DCE) や塩化ビニル (VC) に変換され、汚染サイトに蓄積されるケースが確認されており深刻な問題となっている。微生物の働きを利用して浄化を行うバイオレメディエーションは有効な浄化技術であるが、塩素化エチレン類の浄化の成功の鍵は、汚染サイトの DCE や VC を完全脱塩素化できる“*Dehalococcoides*”属細菌の有無に依存するとされている。本研究ではバイオレメディエーションへの適用を目指し、“*Dehalococcoides*”など有用な嫌気性脱塩素菌の分離、また、DCE や VC の完全脱塩素化を行う微生物コンソーシアムの構築を行った。

【方法】塩素化エチレン汚染サイトのバイオスティミュレーション実験区から採集した地下水及び土壌を微生物源とし、水素、酢酸、*cis*-DCE が含まれる培地を用いて集積培養を行った後、数回の希釈培養、半流動培地で形成される集落の接種による構成微生物の限定化を行った。また、Shake Agar 法によるコロニーアイソレーションを行い *cis*-DCE を利用する嫌気性菌の分離を行った。

【結果】2週間で10 μ M の *cis*-DCE をエチレンまで完全脱塩素化するコンソーシアムを構築した。また、“*Dehalococcoides*” (UCH007 株), *Sulfurospirillum* (UCH001 株) の分離に成功した。UCH007 株は“*Dehalococcoides*”の Victoria サブグループに属し、“*Dehalococcoides*” VS 株に近縁、*cis*-DCE, VC の脱塩素活性を有する。現在、バイオレメディエーションの大臣確認を取得すべく準備中である。UCH001 株は、UCH007 株の共培養において脱塩素化反応を促進することが明らかとなった。UCH001 株の *cis*-DCE・VC 脱塩素化能について解析を行っているところである。

0-7 淡水性の新規好気性鉄酸化独立栄養細菌の分離培養

○加藤真悟, 伊藤 隆, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

Gallionella 属細菌は, pH 中性付近を好み, 好気条件下で二価鉄を酸化して生育する化学合成独立栄養細菌である。鉄酸化菌, または鉄酸化細菌や鉄バクテリアと呼ばれることもある。この種の細菌は, 特徴的な繊維状の構造体を産出することで知られている (Vatter and Wolfe, 1956)。このような好気性の鉄酸化菌は我々の身近な環境に存在する。例えば, 田んぼや湧水池などにみられるオレンジ色の酸化鉄沈殿物を顕微鏡で観察すると, *Gallionella* 属細菌が産出するような繊維状構造体がしばしば確認できる。

鉄酸化菌に関する研究の歴史は古く, 150 年以上前には既に *G. ferruginea* の記載報告がなされている。しかしながら, 現在 *G. ferruginea* の菌株はどのカルチャーコレクションにも存在しない。近縁属の *Sideroxydans* sp. ES-1 株や *S. paludicola* など, 淡水性の好気性鉄酸化独立栄養細菌の分離報告例はいくつかあるが (Emerson and Moyer, 1997; Weiss *et al.*, 2007), 正式に新種として認められている株は現在 1 つもない。鉄酸化菌は, 身近に存在することがわかっているにも関わらず実験室内で培養できない, いわゆる「難培養性微生物」の代表格の一つと言える。生物の必須元素の一つである鉄が, 自然界でどのように循環しているのかを解明するためには, 鉄酸化菌の生理生態を詳しく知る必要があり, そのためには分離株を用いた研究が必要不可欠である。

本研究の目的は, 淡水性の新規好気性鉄酸化独立栄養細菌の分離培養およびその生理学的特徴の決定である。東京多摩地区にある大谷戸公園内の湧水口において酸化鉄沈殿物を採取した。この酸化鉄沈殿物の微生物群集組成を, 培養に依存しない分子生物学的手法によって調べたところ, *G. ferruginea* の近縁種が多種存在することがわかった。グラジエント培養法 (Emerson and Moyer, 1997) を用いて, この酸化鉄沈殿物から新規の淡水性の好気性鉄酸化独立栄養細菌の分離培養を試みたところ, ES-1 株に近縁な株 (16S rRNA 遺伝子配列相同性 94%) が集積培養できた。現在, この株の純粋分離がほぼ完了しており, この株が特徴的な繊維状構造体を産出することを確認している。本発表においては, この株の詳細な生理学的特徴に加えて, 実際の酸化鉄沈殿物中での存在量などの微生物生態学的解析結果も報告したい。

0-8 干潟より分離した新規海洋性酢酸資化性メタン生成古細菌 “*Methanosaeta pelagica*”

○森 浩二¹, 飯野隆夫², 鈴木健一郎¹, 山口 薫¹, 鎌形洋一^{3,4}

¹ 独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC), ² 理研 BRC-JCM, ³ 産業技術総合研究所,

⁴ 北海道大学農学研究院

地球上で生成されるメタンの 74% は生物由来であり, そのうちの 3 分の 2 は酢酸由来のメタン生成である。メタン生成古細菌において, 酢酸を資化してメタンを生成する属は, これまで *Methanosaeta* 属と *Methanosarcina* 属のみが報告されているのみである。このうちの *Methanosaeta* 属は酢酸のみを利用し, また, その分離株の報告はこれまでメタン発酵リアクターなどの淡水環境に限られてきた。一方, 16S rRNA 遺伝子を標的とした分子生物学的な解析から, 海洋環境にも *Methanosaeta* 属が存在することが示唆されていた。

本研究において, 干潟堆積物中から酢酸資化性のメタン生成古細菌を分離することに成功した。16S rRNA 遺伝子に基づいた系統解析から分離株は *Methanosaeta* 属に分類され, 最近縁種は *Methanosaeta harundinaceae* であった (97% の相同性)。 *Methanosaeta* 属の既知種はこれまでに 3 種が報告されているが, これらは NaCl を添加していない培地において至適な増殖を示した。一方, 分離株は 1.5% の NaCl を添加した条件下で至適な増殖を示し, 海洋環境に適応した種であることが判明した。これら以外の分類学的な結果に基づき, 分離株を *Methanosaeta* 属の新種であると結論し, 新たな学名 “*Methanosaeta pelagica*” を提案する。

干潟における *Methanosaeta* 属の存在量を評価するために, 干潟堆積物から全ゲノム抽出を行い, 定量 PCR によって *Bacteria*, *Archaea*, *Methanosaeta* 属, *Methanosarcina* 属の存在量を検討した。この結果, 全原核生物中の *Archaea* の割合は数% であり, 全 *Archaea* 中の *Methanosaeta* 属の割合は 3.9%-11.8% であった。 *Methanosaeta* 属の割合に対し, 全 *Archaea* 中の *Methanosarcina* 属の割合は 10 分の 1 程度であった。この結果は, 干潟環境での嫌気的な物質分解過程において *Methanosaeta* 属による酢酸分解への寄与が大きい可能性を示唆した。

0-9 医薬リード化合物となりうる微生物生理活性物質探索システム構築の提案

○奥田 徹

玉川大学学術研究所菌学応用研究センター

様々な抗生物質から始まり、メバロチン、タクロリムス (FK504)、ミカフンジンなど大型医薬品の創製につながった天然物創薬は今世紀に入ると衰退した。その理由は、1) もはや二次代謝産物は探索しつくしたという誤解、2) 純粋な化合物スクリーニングと比較すると、すぐに活性物質が特定できないなど効率の悪さ、あるいは医薬ターゲット分子を用いたアッセイ系に、混合物である微生物培養サンプルが適合しないなどハイスループット・スクリーニングへの対応の不具合、3) 生物多様性条約が原因で生物資源へのアクセスに足かせがかかっているという判断、4) 新しいトレンドとして、ゲノム創薬、抗体医薬、ワクチン、核酸医薬などの興隆である。その結果、今世紀に入ると最後の砦であったメルク社も天然物創薬から撤退した。わが国の製薬企業でも天然物創薬は風前の灯火という様相を呈している。

しかし2025年の時点においても低分子化合物が医薬品の60%と大半を占めることが予測されている(長谷川, 2007)。一説には、Bill Gatesがアメリカ政府機関と連携して*in silico*創薬に膨大な予算をつぎ込んでいるという。世界一のスーパーコンピュータを目指す予算は認められない、わが国で同じようなことができるだろうか？ わが国では、国の規模にあった試みが必要ではあるまいか。そこで、新たな医薬リード化合物となりうる、微生物生理活性物質探索システム構築を目指した提案を紹介したい。

ポスター発表

P-1 キシラン分解性細菌 *Xylanibacter oryzae* の再分類

○坂本光央, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

【目的】湛水水田土壤中の植物残渣から分離された *Xylanibacter oryzae* (Ueki *et al.* 2006) は 16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析により, *Prevotella* 属と近縁であることが報告されている¹⁾. 本研究では *X. oryzae* についてさらに詳細な系統分類学的検討を行った.

【材料および方法】*X. oryzae* JCM 13648^T および JCM 13649 について, *hsp60* 遺伝子 (558 bp) を標的として塩基配列を決定し, 系統解析を行った. また, これら菌株の化学分類学および生理・生化学的性状を調べた.

【結果および考察】*hsp60* 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析の結果, *X. oryzae* は *Prevotella* 属に属し, *Prevotella* 属とは独立した新属新種でないことが示唆された. 系統樹推定に下平・長谷川検定 (SH テスト) およびマルチスケール・ブートストラップ法 (AU テスト) を応用した結果, *X. oryzae* は *Prevotella* 属と単系統であり, *Prevotella* 属に属するという前述の仮説が支持された. また, *Prevotella* 属に対して報告されている 16S rRNA 遺伝子の塩基配列の Signature Sequence の全て (ポジション 600:638 の塩基対 U:G を除く) が *X. oryzae* の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列中に認められた. 以上の結果より, *Prevotella* 属の記載を修正し, *X. oryzae* を *Prevotella* 属に移して新組み合わせ *Prevotella oryzae* とすることを提案した²⁾.

本研究は公益財団法人発酵研究所 (IFO) の助成および科学研究費助成事業 (23580126) によって行われた.

- 1) Ueki *et al.* (2006) Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 56, 2215-2221.
- 2) Sakamoto & Ohkuma (2012) Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 62, in press.

P-2 納豆種菌 [*Bacillus subtilis* (natto)] が生産する欠損ファージ

○永井利郎, 富岡啓介, 澤田宏之, 青木孝之, 佐藤豊三
農業生物資源研究所・遺伝資源センター

Seaman らは枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 培養液にマイトマイシン C を加えることにより欠損ファージ (PBSX) が誘導されることを見出した. 同時に納豆菌 [*B. subtilis* (natto)] についても欠損ファージが誘導されることを報告しているがその形態などは詳細には調べられなかった. Shishido らのグループは, 納豆菌 IAM 1207 がマイトマイシン C 存在下で欠損ファージ (PBND8) を放出することを見出した. PBND8 は, 形態的には PBSX と類似していたが, PBND8 粒子内に含まれる DNA の大きさが 8 kb であり PBSX の DNA よりも 5.5 kb 小さかった. 頭部直径も PBSX より小さかった.

一方, 木内らは 3 種類の納豆種菌から, それぞれ納豆生産能を有する納豆菌を分離し, 微生物学的性質や納豆生産性に関する特性を調べている. 今回, これらの納豆種菌分離菌が既報の PBND8 とは異なる欠損ファージを生産することを見出したので報告する.

納豆種菌分離株 MAFF118100, MAFF 118103 及び MAFF 118105 を Mg 添加 LB 液体培地 (LBMg) で培養し, PEG-NaCl 法により欠損ファージを沈澱として回収した. ファージ粒子の形態は, 酢酸ウラニウムによるネガティブ染色を行った後に電子顕微鏡で観察した. 欠損ファージ粒子に含まれる DNA は, ファージ懸濁液を DNase 及び RNase により処理した後, フェノール:クロロホルム混液を用いて水相に回収した.

納豆種菌 3 株は, いずれも LBMg 中に PBND8 と形態が類似した欠損ファージを生産した. 欠損ファージの頭部は直径 40 nm, 尾部は幅 18 nm, 長さ 270 nm で, PBND8 よりも尾部の長さが 50 nm 長かったが, 頭部はほぼ同じ直径であった. 粒子に含まれる DNA の大きさは, 13.5 kb と PBND8 より 5.5 kb 小さかったが, PBSX の DNA とは同じであった. なお, 本実験でも対照のために IAM1207 より欠損ファージを新たに調製して調べたが, 既報の PBND8 とは異なり, 納豆種菌の欠損ファージと同じ形態・DNA 長であった. この相違点については, 異なる検討が必要である.

P-3 *Stenotrophomonas maltophilia* が産生するシデロフォアのタイプについて

泉 裕己¹, 田中尚人², 佐藤英一¹, 岡田早苗¹

¹東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科, ²東京農業大学応用生物科学部菌株保存室

【目的】*Stenotrophomonas maltophilia* は海中や土壌など自然環境に広く生息する微生物である。本種は重金属に対する耐性やその蓄積、取り込みに関わるシデロフォアの産生が報告されている。シデロフォアは鉄を中心とした金属の取り込みに利用され、構造によりいくつかのタイプに分けられる。そして生物により多種多様なシデロフォアが知られている。近年では鉄過剰症への薬剤としての利用や細菌感染の検出、およびドラッグデリバリーシステムなどへの研究が行われている。*S. maltophilia* は上記のように金属に対し特異的な性質を示すことから本種のシデロフォアに興味を持たれた。そこで本研究では様々な分離源から得た *S. maltophilia* 各株の産生するシデロフォアのタイプを調べることにした。

【方法・結果】まず *S. maltophilia* 臨床分離株 3 株、海洋分離株 2 株、植物分離株 2 株を供試菌株とし、シデロフォアの産生確認を行った。各株を鉄添加、無添加の 2 種類の MM9 培地にて培養後、CAS assay を用いてシデロフォアの検出を行った。一般にシデロフォアは鉄欠乏条件で産生されるが、全供試菌株においても鉄無添加 MM9 培地のみでシデロフォア活性が検出され、その産生が確認された。また、臨床環境と海洋環境の分離株でシデロフォア活性が強い傾向があった。次にシデロフォアタイプの判別を行った。まずシデロフォアタイプを簡便に判別できる Arnov assay を用いて検出した。その結果、臨床分離株の IAM 12423^T を除く 6 株が Catechol type を産生することが示唆された。そこで IAM 12423^T のタイプを判別するため、細菌での報告が多い Hydroxyamate type を判別する Csaky assay を用いて検出を行った。その結果、IAM 12423^T では Hydroxyamate type のシデロフォアは検出されなかった。また、Catechol type が確認された 6 株についても調べたところ、臨床分離株と海洋分離株のみで Hydroxyamate type のシデロフォアを産生することが示唆された。以上より *S. maltophilia* は同種内でも様々なタイプのシデロフォアを産生することが明らかとなった。また、臨床環境、海洋環境の強い鉄欠乏環境から分離株は複数のシデロフォア産生能を有することが示唆された。

P-4 *Gluconobacter* 属細菌における MALDI-TOFMS を用いた同定法の評価

○村松由貴, 杉本昌子, 吉野真由美, 鈴木健一朗, 中川恭好

独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC)

Alphaproteobacteria 綱に属する酢酸菌 *Gluconobacter* 属の種は、ニコチン酸要求性の有無や D, L-アラビトールからの酸生成能の有無などの表現性状によって分類されてきた。現在、12 種が報告されており、それらは表現性状に加えて 16S rRNA 遺伝子配列や 16S-23S rDNA internal transcribed spacer (ITS) 配列に基づく系統解析、ITS 配列に対する制限酵素多型解析、DNA-DNA ハイブリダイゼーション解析等の手法を用いて分類されている。

MALDI-TOFMS を用いた同定法は、対象微生物のタンパク質マスマスペクトルを取得し、そのスペクトルパターンを比較して菌株の同定を行う方法である。菌体を集菌後、数時間で結果を得ることができ、微生物の迅速な同定法として注目されている。近年、MALDI-TOFMS 解析を細菌の分類に利用した報告が見られようになってきたものの、この手法が新たな分類指標として有効であるか否かについては、これまでの知見を踏まえ、様々な分類群での検証が必要となる。

本研究では、NBRC に保存されている 11 種 51 株の *Gluconobacter* 属細菌について、MALDI-TOFMS 解析を行った。MALDI-TOFMS 分析データを用いて作成したデンドログラムでは、それぞれの種が個々のクラスターを形成し、ITS 配列に基づいた系統樹のクラスターと矛盾しなかった。例えば、*G. frateurii* と *G. japonicus* は、16S rRNA 遺伝子相同性が 100% を示し、16S rRNA 遺伝子のみで識別することは難しい。これら 2 種は、ITS 配列に基づく系統樹と DNA-DNA ハイブリダイゼーション解析によって区別できるが、MALDI-TOFMS を用いた解析でも明確に分けられた。*Gluconobacter* 属細菌においては、MALDI-TOFMS 解析による迅速な同定が可能であると考えられる。

P-5 チンチラの糞便から分離された *Parabacteroides* 属の新種提唱

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

¹ 理研 BRC-JCM, ² 日本獣医生命科学大学動物科学科実験動物学教室, ³ 理研イノベーション推進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. これまでにチンチラの糞便から分離した嫌気性菌について分類学的研究を行い, *Bacteroides* 属の 4 新種を発表した^{1,2}.

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, 嫌気培養を行った. 今回, 分離株のうち 1 株 (ST166 株) について分類学的研究を行ったので報告する.

16S rRNA 遺伝子配列に基づいた系統樹で, ST166 株は *Parabacteroides* 属のクラスターに属しており, 近縁種は *P. merdae* JCM 9497^T (95.6%) であった. さらに *hsp60* 遺伝子配列に基づく系統解析においても既知種と低い類似度を示した. ST166 株の生理生化学性状試験, 菌体脂肪酸組成, イソプレノイドキノン, GC 含量の分析を行い, 近縁種との鑑別性状を明らかとした.

以上の結果より, 本分離株を *Parabacteroides chinchillae* sp. nov. (基準株 ST166^T=JCM 17104^T) として命名提案することとした.

1. Kitahara M. et al. 2011. *Bacteroides chinchillae* sp. nov. and *Bacteroides rodentium* sp. nov., isolated from chinchilla (*Chinchilla lanigera*) faeces. Int J Syst Evol Microbiol, 61: 877-881.
2. Kitahara M. et al. 2012. *Bacteroides stercorisoris* sp. nov. and *Bacteroides faecichinchillae* sp. nov., isolated from chinchilla (*Chinchilla lanigera*) faeces. Int J Syst Evol Microbiol 0.032706-0; published ahead of print July 1, 2011, doi:10.1099/ijs.0.032706-0

P-6 モンゴル産放線菌の多様性

○安齋こずえ¹, 乙黒美彩¹, Marjangul Nurimkhan², Damdinsuren Daram², Ochirbat Enkhtuya², 鋤先まゆ子¹, Tsetseg Balijinova², 安藤勝彦¹

¹ 独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC), ² Mongolian Academy of Sciences

2006 年からモンゴル科学院とモンゴルに棲息する微生物探索プロジェクトを行っているが, 2011 年の放線菌の探索結果, ならびに 2006 年からの探索で明らかになったモンゴルにおける放線菌の多様性について報告する.

2011 年 7 月から 8 月にかけて, モンゴル北部のフスグル並びに首都ウランバートルからほど近いテレルジにおいて, 土壌 19 試料, 地衣類 26 試料を採集し, 土壌試料からは SDS-YE 法, 再水和遠心法などにより 293 株の放線菌を分離した. さらに, 16S rRNA 遺伝子配列に基づく系統解析を行い, 21 属を見いだした. また, 地衣類試料については希釈平板法を用いて 100 株を分離し同様の解析を行い, 9 属を見いだした. 土壌試料と地衣類試料による出現放線菌を比較した結果, 土壌試料においては, 最も高頻度で分離されたのは, *Streptomyces* 属で, *Kribbella* 属, *Cellulomonas* 属, *Actinoplanes* 属, *Pilimelia* 属の順であった. 地衣類試料においては, 最も高頻度で分離されたのは, *Streptomyces* 属で, *Amycolatopsis* 属, *Kribbella* 属, *Micromonospora* 属, *Cellulomonas* 属の順であった.

2006 年より, モンゴルに棲息する放線菌を明らかにしてきたが, この期間に SDS-YE 法, 再水和遠心法などにより 1580 株の放線菌を分離した. 現在, 以下に示す 52 属を見いだしている. *Streptomyces* 属, *Actinoplanes* 属, *Micromonospora* 属, *Cellulomonas* 属, *Kribbella* 属, *Nocardia* 属, *Arthrobacter* 属, *Amycolatopsis* 属, *Streptosporangium* 属, *Nocardiopsis* 属, *Curtobacterium* 属, *Microbacterium* 属, *Nonomuraea* 属, *Isopterocola* 属, *Rhodococcus* 属, *Promicromonospora* 属, *Kineosporia* 属, *Pilimelia* 属, *Krasilnikovia* 属, *Oerskovia* 属, *Williamsia* 属, *Catenuloplanes* 属, *Cryptosporangium* 属, *Lentzea* 属, *Mycobacterium* 属, *Agrococcus* 属, *Catellatospora* 属, *Kocuria* 属, *Leifsonia* 属, *Nocardioides* 属, *Pimelobacter* 属, *Pseudonocardia* 属, *Saccharothrix* 属, *Actinoalloteichus* 属, *Actinokineospora* 属, *Brachybacterium* 属, *Couchioplanes* 属, *Dermacoccus* 属, *Dietzia* 属, *Frigoribacterium* 属, *Herbidospora* 属, *Kineococcus* 属, *Kitasatospora* 属, *Labeledella* 属, *Micrococcus* 属, *Nesterenkonia* 属, *Patulibacter* 属, *Planomonospora* 属, *Plantibacter* 属, *Saccharopolyspora* 属, *Salinibacterium* 属, *Sanguibacter* 属. 一般に, モンゴルの放線菌はその多様性が低いように思われがちだが, 本報告でも明らかのように, モンゴルが生物資源国として魅力的である事が示唆される.

P-7 *Candida albicans* の交配能に関わる現象の種レベルでの再検討

○今西由巳¹, 李 厚敏^{1,2,4}, 田中玲子¹, 李 若瑜^{3,4}, 矢口貴志¹

¹千葉大学真菌医学研究センター, ²北京大学人民病院皮膚科, ³北京大学第一病院皮膚科, ⁴北京大学真菌和真菌病研究中心

Candida albicans の交配については、研究室株であり野生株である Sc5314 を用いて多く研究がなされている。1999 年に Hull らは、Sc5314 株のゲノム配列から、*S. cerevisiae* の主要な sexual cycle 制御因子である *al*, $\alpha 1$, $\alpha 2$ に対応する Mating type-like (MTL) 遺伝子座を発見した。Magee らは、これら制御因子の破壊株を Sc5314 株から作製し、接合が起こることを示した。2002 年、Lockhart らは臨床株を用いて接合型と White-Opaque (W/O) コロニー変換の相関を発見した。彼らによれば、250 株の臨床株での Opaque 型コロニーの出現頻度 (W/O 変換頻度) は 4×10^{-6} であり、すべてホモの MAT 型を示した。

このような背景のもと、我々は *C. albicans* の交配能に関わる現象が「種として普遍性のある現象であるか」について菌株収集し検討した。収集株 93 株を用いた。MTL 遺伝子座の *al* と $\alpha 2$ に特異的なプライマーを用いて、MAT 型を決定した。次に、Phloxine B-YPD でコロニーの色から Opaque 型を決定した。また、PI 核染色により細胞あたりの DNA 量を FACS により測定し、その結果、ホモの MTL 遺伝子座を持つ菌株は 5 株 (5%) であったが Opaque 型のコロニーを確認できた菌株が 21 株 (22%) であった。このことから、W/O 変換頻度が Lockhart らの報告に比べて非常に高いこと、また、ヘテロの MAT 型でありながら Opaque 型を示す菌株も存在することが判明した。さらに、*C. albicans* は通常 1 母細胞から 1~2 の娘細胞が出芽するが、本研究から、核において倍数性の高い母細胞から複数の娘細胞が出芽する株を得た。

これらの結果から、*C. albicans* の交配能に関して、さらに菌株数を 189 株用いて解析を進めており「種として普遍性のある現象とそのメカニズム」について探究している。

P-8 胞子発芽における形態変化と紫外線感受性からみたヒゲカビ 2 種の違い

佐々木勝裕, ○宮崎 厚

石巻専修大学理工学部基礎理学科

【背景と目的】ヒゲカビには *Phycomyces blakesleeanus* Burgeff (以後 Pb) と *P. nitens* Kunze (以後 Pn) の存在が知られているが、胞子サイズと胞子内核数が異なること以外はほとんど調べられていない。そこで本研究では、胞子の発芽過程一特にその形態変化と発芽率の関係、胞子発芽の紫外線・薬剤感受性およびその光回復から 2 種の違いを調べた。

【材料と方法】Pb として標準株 NRRL1555(-) (核数: 3 ± 1 /胞子), Pn として IF09422(-) (核数: 20 ± 3 /胞子) を使用した。培養時間に伴う胞子発芽率と胞子形態の計測: ヒートショック (48°C, 10 分) を与えた胞子懸濁液を PDAYC 培地 (1 mm 厚) に塗り広げ、一定時間静置培養した後に発芽率と胞子のサイズを計測した。紫外線 (UV) と薬剤 (NTG, *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine) 処理: 試料を UV から 30 cm 離し一定時間照射し、その後 Pb では 12 時間、Pn では 6 時間 20°C の暗所で静置培養し発芽率を計測した。胞子懸濁液に NTG (0.2 mg/l) を加え (1:1) 一定時間処理し、滅菌水で 2 回洗浄した胞子を用いた。光回復実験: Pb と Pn の胞子発芽率が約 10% になる時間まで処理した後に暗所と照明下で Pb は 12 時間、Pn では 6 時間静置培養し発芽率を測定し比較した。

【結果と考察】1) 胞子の発芽過程: 発芽率は Pb が 12 時間、Pn が 6 時間で 100% に達した。そして Pb は発芽する前に球体に近くなるが、Pn は長径短径が同じ割合で生長し発芽に至った。Pb と Pn では発芽時間と発芽に伴う胞子の形態は大きく異なることが明らかになった。2) 胞子の UV・NTG 感受性: 発芽率が 10% に低下するまでの処理時間を比較したところ、UV 照射では Pb が約 35 秒、Pn が約 90 秒となり、NTG 処理では Pb が約 30 分、Pn が約 90 分となった。Pb の方が高い UV・薬剤感受性を持つことが示された。2 種における胞子内核数の違いが関連しているかもしれない。3) 光回復: UV 照射後の光回復率を比べると、Pb はほぼ 100% まで回復するのに対し、Pn は約 40% までしか回復しなかった。UV によりダメージを受けた核を持つ胞子は高率で光回復することが示され、Pb と Pn の光回復率が違うことは、光回復酵素の量あるいは活性の違いを示唆するかもしれない。また NTG 処理後では光回復が見られなかったことから、UV とは作用点異なることが示された。

P-9 ベトナムの真菌の分離、分類、提供

○鶴海泰久¹, Le Thi Hoang Yen², 稲葉重樹¹, 伴さやか¹, 鈴木里江子¹, 上條知昭¹, Duong Van Hop², 安藤勝彦¹

¹ 独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC), ² Vietnam National University, Hanoi (VNUH)

NBRC はベトナム科学技術省と締結した包括的覚書の下で、2004年からVNUHとともにベトナムの生物遺伝資源(おもに真菌と放線菌)を収集して、その産業利用の可能性や学術研究の発展を目的とするプロジェクトを展開している。

2010年までの6年間にベトナム各地で土壌・落葉・生植物など324試料を採集し、単孢子分離法や希釈平板法を用いて1,979株の真菌(卵菌を含む)を分離した。それらの株を分類同定するために日本へ移転後、死滅・汚染した124株を除く1,855株について、形態観察とLSU rDNAのD1/D2領域(約600bp)による解析を実施した。その結果、分離株は子囊菌門1,748株、担子菌門53株、ケカビ亜門・キクセラ亜門41株、卵菌門1株に分類された。そのうち子囊菌門に所属する株は798株がフンタマカビ綱Sordariomycetes, 448株がユーロチウム菌綱Eurotiomycetes, 326株がクロイボタケ綱Dothideomycetes, 176株がその他の綱に含まれ、多様性の高さが示唆された。属レベルでは、子囊菌門に138属、担子菌門に4属、ケカビ亜門・キクセラ亜門に11属、卵菌門1属の合計154属が確認された(603株は孢子形成が観察されなかったため未同定)。高い頻度で分離された属は*Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*の9属で、50属は分離株が1株のみであった。2002年にVNUH自然資源管理・環境研究センターが出版した「Checklist of plant species of Vietnam vol. 1」には、粘菌13属と卵菌9属を含む真菌503属1,971種が記載されているが、本プロジェクトで収集した菌株のうち、子囊菌門82属、担子菌門3属、ケカビ亜門・キクセラ亜門8属は記録されていなかった。

移転した菌株はNBRC内の-80℃フリーザーで凍結保存され、バイオセーフティレベル2以上に該当する菌種を除き、スクリーニング用の菌株として国内の企業や大学へ提供されている。

P-10 絶対寄生菌類である白さび病菌の液体窒素気相による長期安定保存技術

○佐藤豊三¹, 埋橋志穂美², 富岡啓介¹, 中島比呂美¹, 澤田宏之¹, 永井利郎¹, 青木孝之¹

¹ 農業生物資源研究所, ² Saskatoon Research Centre, Agriculture Agri-food Canada

ヒルガオ科花卉やアブラナ科野菜を中心とする園芸作物に甚大な被害を与える*Albugo*属等の白さび病菌は、べと病菌やうどんこ病菌などと同じ絶対寄生菌類である。それらは人工培地上で増殖・保存できず、これまで微生物保存機関で保存・配布されていなかったことが、同菌類の研究の継続性や発展を妨げる一因となっている。そこで、他の一般的な菌類と同様に、液体窒素気相内で長期にわたり安定的に保存するため以下の技術を開発した。

宿主植物上に形成された無性世代の遊走子のうを約5mm四方の吸水ろ紙片に付着させ、直ちに風乾後、10枚程度ろ紙片ごとクライオチューブに入れる。これを、フリージングコンテナ(ナルゲン社製Mr. Frosty)により-70℃のディープフリーザー内で緩慢凍結後、液体窒素気相タンク(約-170℃)内に保管する。復元にあたっては、同タンクから取り出したチューブを1分間約40℃湯浴で急速解凍する。次いで、水で濡らした宿主植物の若い茎葉に解凍ろ紙片を貼り付けて接種し、25℃以下で一晩高湿度に保った後、25℃前後のガラス室で栽培管理する。以上の操作により接種10~20日後、十分な発病・増殖が認められ、病原性、孢子形成能、形態等の諸特性を維持した状態で少なくとも10年間安定的に保存できることが実証された。

本保存法にはグリセリン水溶液など、一般の菌類に適用する凍害防止剤の処理は必要ない。また、ろ紙片を担体に用いることにより少量の遊走子のうでも効率的に回収・利用することが出来るほか、複数菌株を復元する場合コンタミネーションを最小限に抑えることが出来る。現在、本法をヨウサイに寄生する*Albugo ipomoeae-aquatica* (MAFF 242576, MAFF 242593), アサガオ類に寄生する*A. ipomoeae-hardwickii* f. sp. *nile* (MAFF 241089, MAFF 241874), *A. ipomoeae-hardwickii* f. sp. *hederaceae* (MAFF 241090) および *A. ipomoeae-panduratae* f. sp. *lacunosae* (MAFF 241091), ホナガイヌビユに寄生する*Wilsoniana blii* (MAFF 241735) やスベリヒユに寄生する*W. portulacae* (MAFF 241734) に適用し、これらの菌株をすでに配布カタログに掲載した。今後、アブラナ科野菜寄生種についても本保存法の適用を図る。

P-11 NBRCにおける学校教材用微生物の分譲促進活動

○稲葉重樹, 山崎敦史, 宮下美香, 吉田和子, 櫛田憲弘, 鈴木健一郎
独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (NBRC)

NBRCでは, 30種の微生物(細菌11種, 糸状菌13種, 酵母6種)を中学校および高等学校教材用に指定し, 安価で分譲している. 2010年度からこれらの学校教材用微生物の利用を促進すべく活動を行ってきたので, その内容を報告する.

1. 実験例の作成

指定微生物の具体的な使用方法を示すため, 4種類の実験例を作成した. 内容は, 3種の微生物の生育特性を観察する「身近な微生物の観察」, 放線菌の他の細菌に対する抗菌活性を観察する「抗生物質の働き」, 3種の酵母の発酵能を比較する「酵母の発酵性試験」, 乳酸菌の生産する酸によるタンパク質の凝固作用を観察する「タンパク質の凝固」, である.

2. チラシの作成と配布

NBRCにおける学校教材用微生物分譲業務の周知をはかるため, 提供微生物のリストとその実験使用例を示したチラシを作成した. チラシは全国のスーパーサイエンスハイスクール (SSH) に指定されている高等学校や農業高等学校などに送付し, 利用を促した.

3. 実験例のデモンストレーション

NBRCの所在地である千葉県木更津市および近隣3市の小中学校理科教員の研修会などの機会を利用して, 実験例の解説を行った. また, 千葉県内のSSH指定校の依頼を受け, 高校生を対象に実験例のデモンストレーションを行った.

高等学校学習指導要領の改訂にともない, 今後は学校理科教育における微生物実験の重要性が増すものと予想される. 上記のような活動を通じ, 各BRCや関連学会などが学校での微生物教育に協力することが, 国内の微生物学の発展に寄与するものと考えられる.

P-12 農業生物資源ジーンバンク事業の植物ウイルスとウイロイド

○富岡啓介, 佐藤豊三, 花田 薫, 山崎福容, 永井利郎, 澤田宏之, 竹谷 勝, 青木孝之
農業生物資源研究所

2012年6月現在, 農業生物資源ジーンバンク事業は252系統の植物ウイルスと16系統のウイロイドを公開している. 植物ウイルスの5系統は2本鎖DNAウイルス *Caulimoviridae* の *Caulimovirus* に属する *Cauliflower mosaic virus*, 2系統は(-)1本鎖RNAウイルス *Bunyaviridae* の *Tospovirus* に属する *Tomato spotted wilt virus*, その他245系統は(+)1本鎖RNAウイルスの少なくとも10科 (*Alphaflexiviridae*, *Betaflexiviridae*, *Bromoviridae*, *Closteroviridae*, *Luteoviridae*, *Potyviridae*, *Secoviridae*, *Tombusviridae*, *Tymoviridae*, *Virgaviridae*) に属する25属67種である. コレクション中, 属が最多の科は *Bromoviridae* (4属) と *Secoviridae* (4属), 種と系統が最多の科はそれぞれ *Potyviridae* (*Potyvirus* のみ16種58系統) と *Virgaviridae* (3属9種62系統), 種と系統が最多の属はそれぞれ *Potyviridae* の *Potyvirus* および *Virgaviridae* の *Tobamovirus* (7種58系統), 系統が最多の種は *Bromoviridae* の *Cucumovirus* に属する *Cucumber mosaic virus* (39系統) である. ウイロイド系統は *Pospiviroidae* の4属9種で, *Apscaviroid* (5種8系統) が種と系統のいずれもが最多の属である. 植物ウイルスとウイロイドの各系統は, 感染植物組織を -165°C の液体窒素(気相)貯蔵槽内で保存するほか, ガラスアンプルに入れて真空乾燥後に -80°C の超低温槽内で保存することにより維持している. 宿主, 来歴, 文献等の情報は同事業のWeb検索システムを通じて閲覧でき, 試験研究又は教育を目的とするユーザーには, 通常, 真空乾燥保存標品が配布される. なお, 配布は, 植物防疫法, 外国為替法, 生物多様性条約等の法令, 条約, 行政措置等に沿った同事業の規程に基づく (http://www.gene.affrc.go.jp/index_j.php).

P-13 JCM の利用による研究成果

大熊盛也

理研 BRC-JCM

バイオサイエンスやバイオテクノロジーの発展のための生物遺伝資源・研究材料の持続的かつ有効な利活用は、バイオリソースセンター（BRC）や微生物保存機関に求められている重要な役割である。整備した生物遺伝資源が利用されて、学術・研究・産業・社会にどのように役立っているかを知ることは大切なことである。

このために、学術・研究のための微生物資源の整備を目的とする JCM では利用者による論文情報を収集し、ホームページから公開している。2011 年には 300 報、この 5 年間で 1400 報以上の原著論文が発表された。これらの論文には、JCM から提供した微生物株を材料に用いた研究の他に、研究に用いた微生物株を寄託し JCM の菌株番号を記して発表されたものも含まれている。最近では課題解決・イノベーションにつながる研究が重視される傾向が強く、利用者による成果として特許出願も重要になると考えられる。2011 年までの 5 年間で、JCM 株を利用した 500 件を超える特許が公開された。ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）でも利用者による成果は重視され、NBRP の情報公開サイト (<http://rrc.nbrp.jp/>) から整備対象の生物種ごとに論文情報が公開されている。世界微生物資源情報センター（WDCM）でも微生物資源の利用による成果を検索・解析するシステムが開発されつつある。

これらの利用者による成果は、生物遺伝資源を整備する BRC や保存機関の貢献を示すためのわかりやすい具体的な指標になる。また、利用された微生物資源の付加価値を高める情報でもあるので、JCM では各株のデータベースに利用による成果情報を掲載している。利用頻度の向上や、より効果的で高度な利用のための将来の整備方針を戦略的に考えるうえでも重要な情報を提供してくれると考えられる。

P-14 農業生物資源ジーンバンク事業の微生物部門（MAFF）における 2011 年の活動と成果

○澤田宏之、青木孝之、佐藤豊三、富岡啓介、永井利郎、竹谷 勝、山崎福容、中島比呂美、熊谷みどり、河瀬真琴

農業生物資源研究所

【収集保存・特性評価】農業や食品産業等に係る 854 株の微生物を新規登録し、2012.1.26 現在、保存株数は 28,333 株（公開率：76.8%）である。また、保存株の分類学的性状、病原性、物質生産性を始めとする延べ 1,881 点の特性情報を集積するとともに、植物炭疽病菌 *Colletotrichum acutatum* 種複合体、*Fusarium* 属菌、*Agrobacterium* 属細菌等を対象として計 4,759 点の DNA 塩基配列の網羅的整備を進め、決定できた配列をジーンバンクのデータベースに格納している。さらに、保存株の学名表記を最新の分類体系に従って更新するための取り組みとして、以下の 5 課題を外部委託により実施した：① *Cercospora* 属とその関連属菌類の分類検証（三重大学）、② *Erwinia carotovora* ナス科系統の分類検証（静岡大学）、③ *Bradyrhizobium* 属根粒菌と *Azospirillum* 属窒素固定菌の分類検証（東京農工大学）、④ *Ralstonia* 属細菌の phylotype 型別（農業環境技術研究所）、⑤ *Bipolaris* (*Cochliobolus*) 属菌の分類検証（畜産草地研究所）。

【ユーザーへの提供】2011.4.1～11.30 の 8 か月間で、国内外へ 1,536 株（申込 190 件）を配布し、分類同定、遺伝子解析、病害診断等に関わる試験研究・教育に広く活用された。また、「日本植物病名データベース」の微生物学名を更新して最新の情報を反映させるとともに、花き研究所が運営するデータベース「花き類病害の診断・防除」、当ウェブサイトの「微生物検索システム」、および「病名データベース」の 3 者を、「病名データベース」を仲立ちとすることによってリンクさせ、相互に参照できるようにした。さらに、保存株の DNA 塩基配列情報が検索・ダウンロードできる機能を「微生物検索システム」に実装し、ユーザーへの配列情報の提供を開始した。2006.4～2011.3 の 5 年間に於ける当事業の取り組みを総括するために、各サブバンクを代表する研究実施課題を取りまとめて微生物遺伝資源探索収集調査報告書（ISSN 0915-2830）の第 24 巻として刊行し、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-15 NBRC 平成 23 年度事業報告

○府川仁恵, 崎山弥生, 清田純也, 藤田克利, 中川恭好, 鷺坂和美, 鈴木健一朗, 中川純一
独・製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター (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 23 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 753 株で, 総計 27,824 株* となった。そのうち公開している微生物株は 17,820 株* である。
 2. 微生物株の分譲は国内 6,767 株, 海外 513 株, 計 7,280 株* であった。
 3. 微生物 DNA クローンは, 現在 21 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, 主に 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, 14 株が追加され, 現在 56 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 エントリークローン 42,417 種類を分譲対象として公開している (総数: 97,816 種類)。
 6. DNA リソースの分譲実績は, 微生物 DNA クローン 4 個, 微生物ゲノム DNA 66 個, ヒト cDNA クローン 140 個, ヒト Gateway エントリークローン 116 個の計 326 個* であった。
 7. ISO9001 認証は取得以来 5 年が経過し, 平成 23 年度は本審査が行われ, ISO9001:2008 の認証が継続された。
 8. 東日本大震災で被災した分譲先に対し, 災害で滅失した生物遺伝資源の無償分譲を行った。また, NBRC に保存されている菌株を NITE 東北支所に年に 1 回バックアップを行っていたが年 2 回としリスク軽減を図る見直しを行った。
 9. 平成 22 年度に引き続きアンプル開封法などの基本技術のための「微生物実験講習会」を平成 23 年度は 2 回開催した。
- (*: 1 月末現在のデータ)

P-16 2011 年度の JCM の活動報告

○押田祐美, 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, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

JCM は, 信頼・継続・先導性をモットーに「環境と健康の研究に資する微生物」に焦点をあて, 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学術・研究に貢献することを目指している。対象とする微生物は, 細菌, 古細菌, 菌類 (ただし BSL2 以下で扱うもの) で, 2012 年 1 月末現在 20,724 株を保有し, 13,672 株を公開している。2011 年度は 1 月末までに 539 株を収集し 2,748 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 (MTA) 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 1 月末までに 273 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, 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, 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ている。2011 年度の寄託株のうち約 5% に取り違え等の不備があった。

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, オンラインカタログの逐次更新と充実, 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活動, 技術研修を実施している。

P-17 病原真菌・放線菌の収集・保存・提供

○矢口貴志, 田中玲子, 伊藤純子, 亀井克彦, 五ノ井透
千葉大学真菌医学研究センター

医療の高度化に伴い、ガンやエイズなどの疾病により免疫の低下した患者にとって、真菌（放線菌も含む）による感染症（真菌症）は深刻な問題となっている。真菌症に関する教育や基礎研究の他、新しい診断薬や薬剤の研究には、質の高い病原菌株が必要である。それらを支援するため、千葉大学真菌医学研究センターでは、病原真菌・放線菌の収集、保存、提供を行っている。その収集・保存においては、(1) 基準株（あるいは標準株）の充実、(2) クラス 2, 3 の高度病原菌、(3) これまで感染例の報告のある全ての菌種、(4) 感染症の動向調査や薬剤開発のために必要となる新鮮な臨床分離株等を主たる対象としている。また、個々の菌株においては、質的向上を図るために、分類の指標となる遺伝子配列（真菌では ITS, D1/D2 の塩基配列、放線菌では 16S rDNA 等）、最新の菌学的性状、薬剤感受性、臨床情報等をデータベースとして整備し公開している。このような高付加価値の保存株は、感染症教育や研究に提供されるばかりでなく、今後起こりうるいかなる感染症にも対応可能なレファレンスとしての病原微生物株コレクションを目指している。

上記のような菌株の収集するため、原因菌の同定、薬剤感受性試験などの依頼を引き受けることによる医療現場との連携、国内外との共同研究の推進、海外の菌株保存機関と菌株の交換などを実施している。2011 年末の保存総数は真菌 17,900 株、放線菌 2,100 株である。

保存株の品質向上に関しては、分類体系が大きく変化した菌群においては、その保存株全てを再検証し、その情報はデータベースに直ちに反映させている。

また、病原菌の取り扱いが出来ない機関からの要望には、培養株ではなく DNA での提供も実施している。さらに平成 22 年度に導入した分譲株課金システムを着実に実行し、利用者にとって利便性の高いインターネット上での分譲システムへの改善を目指している。2011 年の提供数は、真菌 40 件 724 株、放線菌 15 件 92 株であった。

なお、本事業は文部科学省からナショナルバイオリソースプロジェクトとして支援を受けている

P-18 鳥取大学菌類きのこ遺伝資源研究センター (FMRC) の保有菌株 (TUFC 株) の公開分譲

○早乙女梢, 白水 貴, 牛島秀爾, 中桐 昭, 前川二太郎
鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センター

菌類きのこ遺伝資源研究センター (Fungus/Mushroom Resource and Research Center (FMRC)) は、2005 年 4 月に鳥取大学農学部附属の研究施設として開設された。以来、FMRC には 4 つの研究部門（菌類きのこ環境生態学研究部門、菌類きのこ遺伝資源評価保存研究部門、菌類きのこ分子遺伝学研究部門、菌類きのこ機能開発研究部門）に 10 名の教員が所属して、真菌類、特にきのこを形成する担子菌類と子囊菌類を対象とした系統分類、生態などの基礎研究および菌類遺伝資源の応用利用を目指した研究を進めている。FMRC が現在保有する遺伝資源は、設立当初に (財) 日本きのこセンター菌草研究所から譲渡された野生きのこを中心とした菌株に FMRC で独自に収集した菌株を加えた約 1,000 種 7,000 株から成り、これら全てに TUFC No. を付して管理している。これらの遺伝資源は、これまで鳥取大学内の研究者を対象に分譲提供されてきたが、資源がより多くの研究者に有効利用されることを目指して、平成 24 年度より学外への公開および分譲を開始する予定である。分譲開始時に公開する TUFC 菌株としては、サルノコシカケ類やコウヤクダケ類などの担子菌門ハラタケ綱に属する菌類、いわゆるきのこ類を中心に約 120 属 200 種 400 株を予定している。公開する菌株は、形態情報と分子情報（核 rDNA ITS 領域の塩基配列）の両方に基づいて正確に同定されたものに限ることで、菌株コレクションの高品質化を図っている。また、今後同定が済んだ菌株についても逐次公開する予定である。菌株情報は“TUFC 菌株カタログ”として FMRC のホームページ上で公開し、菌株の検索、菌株情報の閲覧、ITS 領域の塩基配列を用いた BLAST による類似菌株の検索が可能である。菌株の分譲は、まずは国内を対象とするが、順次海外分譲にも対応するとともに、外部からの菌株寄託を受け付ける体制も整える予定である。真菌類のうち特にきのこ類を充実させた特色あるコレクションとして、菌学の基礎から応用まで幅広い研究に役立つことを目指している。

P-19 第3期 NBRP プロジェクトでの岐阜大学病原微生物遺伝子資源センターの活動目標

○江崎孝行, 林 将大, 水野卓也, 大楠清文
岐阜大学医学部病原微生物遺伝子資源保存センター

文部科学省の生物基盤整備事業の第3の重要な目標は国際品質と国際化である。

国際的なレベルの品質保証をした株の分譲は弱小コレクションにとっては大きな課題になっている。病原微生物株の品質保証に16S rDNA 情報だけでなく、house keeping gene (HKG) 情報の付与、新しいMALDI-TOF MASS データにもとづいたりボゾームタンパク・プロファイル、さらに病原性の有無を計測した情報の付与を行う計画を進めている。特に病原性因子の付与はこれまで困難であったが、解析が迅速なMALDI-TOF MASSを使ったデータの蓄積を目指している。病原因子をMALDI-TOF MASSで解析する際の最も重要な情報は病原性因子の生産に適した培養条件と分子量を的確に把握するために病原性因子タンパク配列の多型情報が重要になってきており、情報基盤の蓄積を行っている。

国際化に向けた取り組みとしてデータベースの見せ方を変える計画でいる。現状のNBRPの情報は菌株ベースの情報発信であり、利用者からは目的の菌株の検索が難しいとの批判を受けている。そこで菌種レベルの情報発信と、必要に応じてカテゴリーを細分したデータの提示方法を検討している。代表的な*Escherichia coli*では下記のカテゴリーに分け、株情報は下記のパイル単位で表記し、株情報はNBRPのホームページ検索から行う方法へと変更する計画を立てている。

Escherichia coli serotypes
Escherichia coli pathovar Enterotoxigenic ETEC
Escherichia coli pathovar Enteroinvasive EIEC
Escherichia coli pathovar Enterohaemorrhagic EHEC (STEC)
Escherichia coli pathovar Enteropathogenic EPEC
Escherichia coli pathovar Uropathogenic UPEC
Escherichia coli pathovar Systemic-Pneumonia SPEC
Escherichia coli genetically modified GMEC

P-20 NBRP 藻類—多様な藻類リソースの収集と保存—

○河地正伸¹, 笠井文絵¹, 川井浩史², 羽生田岳昭², 山岸隆博², 井上 勲³, 石田健一郎³, 中山 剛³, 渡邊 信³, 小亀一弘⁴

¹ 国立環境研究所, ² 神戸大学自然科学系先端融合研究環, ³ 筑波大学生命環境系, ⁴ 北海道大学理学研究院

藻類は、「酸素発生型の光合成」という特性のみでくられた生物グループであり、近年の分子系統学的研究では、様々な非光合成生物との類縁性が示されている。藻類は陸上植物への進化過程のみならず、地球上の様々な生物の進化を考える上で重要であり、生命現象の理解に欠くことのできない生物グループと言える。ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) におけるこれまでの活動の中で、国内における藻類リソースの集約と保存提供体制の整備、保存株の高品質化、管理体制の強化等の整備が行われてきた。その結果、国内の主要な藻類リソースのうち、微細藻株は中核機関の国立環境研究所に、大型海藻株は分担機関の神戸大学に集約され、総計46綱442属880種2663株に達する多様な保存株の保存と提供を行う体制が整備された。

2012年度から、第3期NBRPが始まるにあたり、NBRP藻類では、ライフサイエンスの基盤的研究を推進するに資する世界最高水準の藻類リソースを整備することを目指して、これまでの活動を維持・発展させるとともに、モデル生物等の重要な藻類リソースの拡充と高品質化を図ること、そしてゲノム情報等の付加情報を整備する体制を構築することなどを計画している。これまでのNBRP藻類の活動、そして多様な藻類リソースの収集と保存のための今後の取り組みについて紹介する。

P-21 NIES 藻類コレクションの 2011 年度の活動と今後の展望

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

¹ 国立環境研究所, ² 地球・人間環境フォーラム

国立環境研究所の微生物系統保存施設では、2,326 株の藻類保存株および藻類に系統・進化的に類縁のある微生物保存株を公開、提供している（2012 年 3 月現在）。当施設は、アオコや赤潮等の環境問題を引き起こす種およびこれに関連する種の保存株が充実していることに加えて、高次分類群レベルで 18 門、46 綱におよぶ多様な分類群に所属する種を網羅していること、そして車軸藻などの絶滅の危機に瀕する大型藻を維持・管理するといった特色をもつ。当施設だけに存在する独自の保存株の占める割合が高いのも特色の一つと言える。

本年度 2 月末までの分譲株数は、1,132 株で、環境研究や試験研究、バイオ燃料や生理活性物質の探索等の応用研究、分類学や進化系統学的研究等の基礎研究、教育等の様々な目的で利用された。継代培養保存から凍結保存への移行も順次進めており、今年度までに微細藻保存株 963 株、絶滅危惧種の淡水産紅藻 174 株、合計 1,137 株を凍結保存に移行した。

保存業務に関連する研究開発や広報活動としては、①凍結保存の困難な保存株を対象とする長期安定的保存法の開発、②分類学的位置の不明な種、種同定の困難な種等を対象とする DNA バーコーディング情報の取得、③保存株の基本情報の整備に加えて、分類、DNA、特性等の付加情報、そして文献情報等の派生情報の取得と整備、そして④利用者にとって使いやすく、有用な情報を盛り込んだホームページの充実といった諸活動に取り組んでいる。