

受賞講演

日本微生物資源学会学会賞

微生物園と菌族館

佐藤豊三

農業生物資源研究所遺伝資源センター分類評価研究ユニット

中学校の夏休みに友達と細菌を培養する自由研究を試みたが、作った培地にかびが生えてしまったのが菌類との出会いであった。それが高じて、大学・大学院時代には植物の絶対寄生菌であるさび病菌を研究し、職を得てからもずっと植物病原菌類の研究に携わってきた。その間、農家の方々をはじめ様々な立場の多くの方々が大変お世話になった。まずは衷心よりお礼申し上げる。しかし、何と言っても菌類のお陰で生きる糧が得られたばかりか、研究の喜びを知り、変幻自在な生き方まで見習えた恩恵は計り知れない。その道程を振り返りつつ、菌類にどんな恩返しができるか考えてみた。

さび病菌の形と生き方：さび病菌は1～5つの胞子世代を持ち、形も生活史も様々である。それまであまり重視されていなかったさび胞子世代を形態的に詳しく調べ、4種類を14型に再分類した。また、さび病菌の異種寄生種は遠縁の2種植物上で異なる胞子世代を形成するため、接種により生活環を調べる必要がある。この研究の中でニリンソウとアキグミに異種寄生する菌を発見し、*Ceraceopsis* 属を創設した。一方、いくつも胞子世代を持つ同種寄生種や冬胞子世代の知られていない種的生活環を接種や核の行動などを基に調べた。その結果、*Aecidium raphiolepidis* などさび胞子型夏胞子世代のみで生活する種を見出し、さらに、2型の冬胞子世代を持つ *Puccinia japonica* を発見した。

小笠原諸島の菌類相：1982年、東京都小笠原亜熱帯農業センターで土壤肥料担当の職を初めて得たが、作物の病原菌や島のさび病菌と時のこも調べた。転勤後も菌類調査に出かけ、現在までに植物病原菌90属136種を同定した。そのうち63種は同諸島未報告種であり、また、*Colletotrichum boninense* など3新種1新組合せ12日本新産種とともに、46種の病原菌について延べ49種の新宿主を明らかにした。2010年、上記の成果を含めて過去1世紀半の間に記録された同諸島の菌類約1,000種をリストアップし公表した。このリストは世界自然遺産登録の参考資料に活用されたほか、収集した約350菌株は農業生物資源センターのコレクションの中でもきわめて貴重な研究試料となっている。

植物病原菌類の分類同定と菌株寄託：1987年、農

林水産省に移籍して以降、広く植物病原菌を扱う仕事に就き、国内外の82新病害・初発生病害等の病原菌を同定し、病原性などを解明し診断・防除に貢献した。その中には *Adisciso kaki* など1新種2新組合せ4新分化型が含まれる。成果を論文発表するとともに、収集した600以上の菌株を同センターに寄託し、試験研究用に分譲している。

植物炭疽病菌の分子系統解析：分子系統解析の遅れていた植物炭疽病菌の菌株を収集し、2002年、rDNA-ITS領域に基づく本菌の分類体系を世界に先駆けて公表した。また、 β -tubulin-2 遺伝子の塩基配列に基づいて日本産キク科炭疽病菌 *Gloeosporium carthami* の約90年前の乾燥標本と最近の菌株を分子系統学的に再評価し、新組合せ *Colletotrichum carthami* として復活させた。この他マダケ黒色立枯病菌 *Colletotrichum hsienjenchang* や角膜真菌症原因菌の1種である *Glomerella septospora* など他のアジア炭疽病菌についても分子系統上の位置を初めて明らかにした。

農業生物資源センターの運営：2001年、農林水産省研究機関の独立行政法人化に伴って同センター事業の大部分は農業生物資源センター事業に衣替えし、農業生物資源研究所に引き継がれた。その微生物部門の立ち上げから現在に至るまで、在庫・品質管理システムや情報管理システムの整備・刷新を推し進めた。現在、保有微生物株は約3万株に達して国内有数の規模となり、分譲実績も年間1,500株以上に倍増した。また、ICCC-10では、途上国の関係者を対象にトレーニングコースを実施し、国際的にも微生物保存・品質管理技術の向上に貢献した。少数精鋭の正規職員と優秀な契約職員や情報部門とのチームワークがなければ、今日の発展には至らなかった。

日本植物病名データベース：植物にも様々な病気がある。それらの病名、病原、出典などは日本植物病理学会がとりまとめ「日本植物病名目録」として刊行している。2007年、農業生物資源センターはその転載許諾を得て、内容をデータベース化し検索機能を付して2009年に公開した。その後、数々の更新・改良と検索オプションを追加し、さらに同センターの微生物株カタログをはじめとする関連データベースや病害関係サイトとのページ間リンクを張り、飛躍的

に利便性を高めた。現在、約 11,400 病名の最新情報を擁する本データベースは、昨年出版された上記目録第 2 版の編集に利用され、また、最近のアクセス数は年間約 300 万件にのぼっている。

微生物園と菌族館：菌類は動植物と並ぶ生物界の重要な一員であるにもかかわらず、残念ながら世間ではいまだなじみの薄い存在である。2008～2009 年、国立科学博物館が東京で「菌類のふしぎ」展を開催し、菌類をキャラクターとした人気漫画の飾り付けもあって大盛況であった。翌 2010 年、英国で開かれた第 9 回国際菌学会に合わせて、エジンバラ王立植物園内の展示室で ‘From Another Kingdom — The Amazing World of Fungi —’ が開催された。人の背丈よりも大きなきのこの模型や壁いっぱい引き伸ばされた顕

微鏡写真などが展示され、小虫になった気分で菌類を実感することができた。こんな展示館、いわば「菌族館 (Mycorium)」をどこかに常設できないものだろうか？ さらに、微生物全般を知り体験できる「微生物園 (Microbial garden)」があったら、菌類をはじめとする多種多様な微生物の姿や生き様を多くの人々に紹介できるだろう。きっとそれは彼らが市民権を得ることにつながり、最高の恩返しになると思う。総陸地面積の 0.25% に過ぎない日本に世界の菌類の 16% 以上が分布していることを見ても、日本が微生物の宝庫であることは言うまでもない。そして、何と言っても日本はカルチャーコレクションと微生物学の先進国。いつか必ずこの夢が実現すると信じている。

シンポジウム**S-1 環境オミックス情報解析時代の未知・未培養微生物の探索と資源化**

玉木秀幸

産業技術総合研究所生物プロセス研究部門

地球環境中には膨大かつ多様な微生物が棲息しており、実にその99%以上が未だ分離培養されたことのない機能の未知な微生物であると言われている。そんな未知微生物の多様性や機能を、培養することなく明らかにする分子生態解析技術の誕生により、1990年代、環境微生物学は大きな転換期を迎え、今世紀に入りさらなる飛躍的な発展を遂げてきている。特に、次世代シーケンス技術の登場により、「遺伝子を読む」から「ゲノムを読む」時代へと変革し、今や、環境中のDNA、RNAを網羅的に解読し、系統と機能の両面から微生物生態系を丸ごと解明しようとする環境オミックス情報解析研究が欧米を中心に隆盛を極めていく。例えば、Earth Microbiome Projectでは、世界中の様々な環境から20万種以上の核酸試料を収集し、その全ゲノム、全RNA、全16S rRNA遺伝子を解読することによって、微生物の多様性と潜在機能に関するグローバルバイオマップを作ろうとする試みがなされている。また米国が主導するHuman Microbiome Projectでは、ヒトに関わる微生物群の多様性と機能を環境オミックス解析で徹底的に解明することを目指している。さらに最近になって、シングルセルゲノミクスの技術がほぼ確立され、1細胞の未知微生物からゲノム断片情報を取得し、その基本的な代謝様式や機能をより精緻に解き明かそうとする試みが始まっている。今後、こうした環境オミックス技術により獲得された遺伝子・RNA・タンパク質情報について、その

資源化競争が激しくなる可能性も示唆されている。このような環境オミックス情報解析の時代にあって、コッホ・パスツールの時代から140年以上も続いてきた培養を介したアプローチは、ややもすると時代遅れと見なされ、敬遠されがちであり、環境微生物学研究にはもはや培養は必要ないのではないかと、という声すら聞かれる。果たしてそうだろうか。20年以上も前にゲノムが決定された大腸菌でさえ、未だ機能の不明な遺伝子が10%程度あり、新門微生物のゲノムに至っては45%もの遺伝子が機能不明のまま、という事実を鑑みると、シーケンス情報のみからでは決して見えてこない、未知微生物の重要な新機能は少なくなく、培養を介したアプローチはやはり微生物学の根幹技術であり、環境オミックス解析技術を相互補完するためにも重要な基盤技術であり続けるだろう。そもそも、培養できないと言われる未知微生物を培養できた時、重要な未利用微生物・遺伝子の資源化が図られるだけでなく、「なぜ99%以上もの環境微生物が未だ培養できないのか」という微生物学上の最大の謎に答えを見出すことができるのではないだろうか。本発表では、2001年以降、その歩みは遅いものの着実に進展してきている未知微生物探索研究について、その現状、課題、展望を概説するとともに、環境オミックス技術を活用した新しい未知微生物探索の潮流についてご紹介したい。

S-2 リボソームタンパク質群遺伝子配列を利用した MALDI-TOFMS 解析と微生物株の同定

佐藤浩昭

産業技術総合研究所環境管理技術研究部門

微生物を迅速に分析する技術の開発は、食品・医療・環境などをはじめとする様々な分野で強く求められている。このニーズにこたえるために、最近、質量分析法を用いた微生物の迅速分析が注目されている。この方法は、微生物菌体を構成する成分（主にタンパク質や脂質）をマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法（MALDI-TOFMS）で測定し、観測されるマススペクトルのパターンから微生物種を迅速同定、あるいは菌株の識別を行うもので、多検体試料を数分～数十分で解析することができる。しかしながら、この方法では、ピーク成分を帰属せずにマススペクトルライブラリとのマッチングで菌株を同定するため、解析結果は遺伝学的な根拠が希薄であった。そこで演者らは、遺伝情報と関連付けながら、類縁の微生物まで正確かつ迅速に同定・識別できる新しい微生物分析法の開発に取り組んできた。

我々は、そのバイオマーカーとして、あらゆる生物に多量に存在するリボソームに注目した。リボソームの基本的な構造や役割はすべての生物に共通しているが、生物種によって微妙に構造が異なることを利用して、遺伝子解析法では主に 16S rRNA 遺伝子をター

ゲットにしている。一方、我々は MALDI-TOFMS で、数十種類のリボソームタンパク質の分子量を一斉に測定し、基準株のリボソームタンパク質の分子量とどれだけ一致するかを指標として、微生物株を同定・分類する方法を開発した。

リボソームタンパク質の分子量は、リボソームタンパク質遺伝子の DNA 配列を反映していることから、本法による解析結果は遺伝子型の違いに基づいている。しかもこの方法は、遺伝子解析法では苦手な近縁の微生物菌株の識別も、簡単かつ明瞭に行うことができる。リボソームタンパク質はわずか数分の簡単な前処理で得ることができ、質量分析法は非常に高感度であるので、ごくわずかな量の微生物でも迅速に分析できる。これまで、微生物種の分析において、迅速性と正確さを両立させることは難しかったが、本分析技術により、特徴的な機能や病原性をもつ微生物の正確な同定やスクリーニングなどを効率的に進めることができる。本講演では、これまで分類が不明確であった *Bifidobacterium longum* 類縁菌や *Lactobacillus casei* 類縁菌などの解析例を交えながら、本法の特徴や今後の展望について述べたい。

S-3 担子菌系酵母のゲノム解析と分類学的考察：

ドラフトゲノム解析に基づく *Trichosporon* 属および近縁菌株の系統関係○高島昌子¹, 杉田 隆², 眞鍋理一郎³, 菅原秀明⁴, 大山 彰⁵, 大熊盛也¹¹ 理研 BRC-JCM, ² 明治薬科大学・微生物学, ³ 理研オミックス基盤研究領域,⁴ 国立遺伝学研究所, ⁵ インシリコバイオロジー

Trichosporonales 目には 4 属 51 種 (*Trichosporon* 属 37 種, *Bullera* 属 3 種, *Cryptococcus* 属 10 種, および *Cryptotrichosporon* 属 1 種) がリストされている (The Yeasts, A Taxonomic Study, 第 5 版). *Trichosporon* 属自身が多系統であり, また上記 *Bullera* 属 および *Cryptococcus* 属 の基準種は Tremellales 目に位置するなど, 本目は分類学的に問題が多い. 一方, 本目には, 健康や環境の研究に重要な種が多く含まれている. たとえば, *T. asahii* は深在性真菌症や夏型過敏性肺炎の起因菌であり, *T. mycotoxinivorans* はオクラトキシン A などのマイコトキシンを解毒する. いくつかの種はセルラーゼ活性を有し, また多くの種は芳香族化合物や脂肪族化合物を含む多くの炭素源の資化能を有する. そこで本目の包括的な理解のため, また再分類により医学, 農学, およびバイオテクノロジーの分野に貢献するため, 我々は菌類にゲノム分類の導入を開始した.

本目に位置する *Trichosporon* 属および関連種 13 株の菌体から DNA を調製し, FLX もしくは illumina シー

ケンサーによりドラフトゲノム解析を行った. De novo assembly の後, 自動アノテーションは MiGAP により行った.

Cryptococcus neoformans および *C. gattii* のゲノムデータと比較して, *T. asahii* のドラフトゲノムから 59CDS をマーカー遺伝子候補として選択した. 相同性検索により, 各ドラフトゲノムから当該領域を抽出, CDS 毎および concatenate した系統樹を作成した. rRNA 遺伝子に基づく系統樹で bootstrap 値の高い clade 内の種は, CDS の系統樹においても高い割合で系統枝を形成した. また concatenate により得られた系統樹は高いブートストラップ値で 13 株の系統関係が明らかになった.

本目の分類体系の再構築には, 属レベルの識別を行う表現型を得ることが必要である. しかしながら糸状菌に比べ形態学的特徴が少ない酵母の場合, 属を識別する形態から表現型を見つけることは困難である. そこで, 遺伝子の配列データを表現型として属の定義を行うシステムの構築を行いたいと考えている.

S-4 *Bifidobacterium* 属細菌の比較ゲノムとプロバイオティクス

森田英利

麻布大学獣医学部

近年, *Bifidobacterium* 属の菌新種登録は盛んで、現在, 30 を超える菌種が認知され、宿主となる動物種を広げて探索することで、今後も本属の菌種は増えていくと思われる。2013 年 2 月の時点で、ゲノム情報が公開されている *Bifidobacterium* (complete 株数 + draft 株数) は, *B. adolescentis* (1 株 + 1 株), *B. angulatum* (0 株 + 1 株), *B. animalis* (10 株 + 2 株), *B. asteroides* (1 株 + 0 株), *B. bifidum* (3 株 + 3 株), *B. breve* (2 株 + 3 株), *B. catenulatum* (0 株 + 1 株), *B. dentium* (1 株 + 3 株), *B. gallicum* (0 株 + 1 株), *B. longum* (10 株 + 7 株), *B. pseudocatenulatum* (0 株 + 1 株) である。菌種の有用性や研究者の興味の範囲で、特定の菌種に偏ってゲノムシーケンスされている状況が伺える。*Bifidobacterium* 属のゲノムサイズは 1.9 ~ 2.8 Mb の範囲で、同じく生物の消化管を棲み家とする *Lactobacillus* 属のゲノムサイズとほぼ同じである。両属は門 (phylum) レベルで異なる生物種になるが、なるべくゲノムサイズを小さくし、かつ同じ環境下で生きているので遺伝子セットが概ね類似していることを物語っている。

Bifidobacterium 属のゲノム解析の興味としては、一般的なゲノミクス (mobile elements, プロファージ, 糖代謝, アミノ酸やビタミン合成系など) のほかに、CRISPR 構造, restriction-modification system, ペプチドグリカン合成, EPS 産生, ランチバイオティクス産生, ストレス (酸素・温度・酸) 応答, 線毛の有無

などが注目される。そして、機能的比較ゲノム解析として、まずは腸管定着性にゲノム構造がどのように適応しているのか、またその菌株がどう新しい環境に適応するのか、について解析が進められてきた (Lee *et al.*, BMC Genomics, 2008)。一方、口腔内に棲む *B. dentium* は、消化管で棲息する他の *Bifidobacterium* 属は異なる特徴をもつことが示された (Ventura *et al.*, PLoS Genet., 2009)。

腸管出血性大腸菌 O157 感染死を予防できるビフィズス菌のフルクトーストランスポーターの発見 (Fukuda *et al.*, Nature, 2011) は、プロバイオティクス効果の違いを、全ゲノムの塩基配列を決定し、菌種・菌株間での比較ゲノム解析で見つけた典型的な例である。一方で、健常なヒトの腸内細菌叢は強固であるため、*Bifidobacterium* 属を摂取しても簡単には細菌叢を変化させないという報告 (Kim *et al.*, DNA Res., 2013) がなされ、プロバイオティクスは既存の腸内細菌叢を変化 (改善?) させているのではないか? という曖昧であった推察が、どうもそうではない、という方向で科学的に解明されつつある時期でもある。

また、“安全 (GRAS)” と考えられている *Bifidobacterium* 属も、菌株レベルでの安全性について動物試験の重要性はもちろんであるが、ゲノム解析の観点から情報提供するのも社会的に必要なものかもしれない。

S-5 病原細菌の比較ゲノム解析によるゲノム多様化機構の解明

中川一路

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・細菌感染制御学分野

細菌の進化において、ファージやプラスミドといった外来性遺伝子による遺伝子の伝播やゲノム再構成、種内の菌株間での組換えなどによる多様性制御が重要である。一方で、外来性遺伝子の細胞間移動抑制機構として近年 clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) が注目されている。多数の菌株の比較ゲノム解析が可能となった今、このような進化の痕跡をより詳細に検討することができる。本講演では、そのような観点から、現在の我々の研究を幾つか紹介したい。

A 群レンサ球菌 (GAS) は多彩な病態を示し、多くの異なるファージの獲得によって病原性を変化させていると考えられている。一方で、ファージなどの外来性 DNA に対する防御機構である CRISPR が存在することから、プロファージが多く存在することには矛盾があると考えられる。そこで、GAS 70 株のゲノム情報を用い、多株ゲノム比較解析を行った。その結果、2 種類ある CRISPR は、排除対象としている外来 DNA の種類が異なっていた。Pan-genome から、特定の遺伝子の有無によりクラスタリングしたところ、同じ CRISPR スペーサーを持つ株同士と CRISPR を

有しない株同士が同じグループになっていること、そして株特有の遺伝子セットがファージに由来していることから、本菌の CRISPR にはファージを選択的に取り込む働きがあると考えられ、CRISPR により取り込むファージを制御していることが示唆された。

また、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* では、ゲノム再構成と組換えを詳細に調べた。その結果、3 株のドットプロットでゲノム再構成発生点に insertion sequence (IS) が高頻度に認められた。また、multilocus sequence typing 解析から 60 株のスプリット系統樹で網目構造が顕著であることから、本菌では菌体間での組換えも頻繁におきていることがわかった。さらに、60 株で同定した全 CRISPR スペーサーのうち 97% は、相同性検索で 7 種のデータベース内に相同配列は検出されなかった。一方、残り 3% のうち 6 割以上は本菌のゲノム配列の一部と相同で、その多くが IS 上またはその近傍に位置していた。よって本菌の CRISPR は、菌体内 IS や他の *P. gingivalis* 菌体由来の DNA を標的として、IS 移動や外来 DNA 取り込みを抑制していると考えられる。

一般講演

O-1 森に酵母資源の宝庫を見つける

○遠藤力也¹, 升屋勇人², 大熊盛也¹

¹理研 BRC-JCM, ²森林総合研究所

植物・動物・微生物に至るまで、森には多種の生物が棲息する。肉眼で見えるもののなかでは節足動物、特に昆虫の種数は極めて多い。発表者らは森林昆虫嗜好性菌類の生態を明らかにするため、森林昆虫関連基質の菌類群集および虫体の随伴菌類相の解析を行ってきた。その過程で、多様な昆虫種の生態に何らかの形で酵母類が関係していると考えられるケースが極めて多いことが判ってきた。本発表では、養菌性キクイムシ (Ambrosia beetles) およびシデムシ (Silphid beetles) の随伴酵母に関するこれまでの研究成果を紹介する。

1990年代以降、劇症型樹木病害の一つであるブナ科樹木萎凋病 (ナラ枯れ) の被害拡大に伴って、本病害のベクターであるナガキクイムシ科養菌性キクイムシの生態解明が喫緊の課題となっている。養菌性キクイムシは樹体内に営巣し、その巣壁 (坑道, Beetle gallery) で共生菌を育てて餌にするといわれるが、特にナガキクイムシ科についてその菌類群集構造や構成菌種に関する知見は乏しかった。ナガキクイムシ科養菌性キクイムシの坑道の菌類群集を解析したところ、未同定の酵母が多数分離された。しかし蛹室を含む坑道奥部の酵母群集は極めて安定しており、特定の酵母 (*Candida kashinagacola* および *Candida* sp.) が宿主虫の生態に密接に関係していることが疑われた (Endoh *et al.*, 2011)。

シデムシは主に死肉食または腐敗物食で、自由生活性または亜社会性の甲虫である。ユニークな生態をもつものが含まれることから、行動生態学的な研究は以前から行われてきた一群だが、菌類との関連に着目した研究はこれまで無かった。近年発表者らはシデムシが特定の分類群の酵母の Natural host であることを発見し、生態学的・分類学的見地から研究を進めている。

上記の他にも、酵母との密接な関係が疑われる森林昆虫は数多く存在する。国土の約7割を森林に覆われる我が国において、森林昆虫は未開発の酵母資源の宝庫として注目されるべきである。このような酵母資源の開発を進めることで、酵母生態学の研究シーズを提供することにもつながるだろう。

参考文献 Endoh, R. *et al.* (2011) *Microb. Ecol.*, **62**: 106-120.

O-2 らせん状の細胞外構造体を産出する淡水性鉄酸化細菌 OYT1 株の性状解析

○加藤真悟, 伊藤 隆, 大熊盛也

理研 BRC-JCM

二価鉄を酸化することでエネルギーを得て生育する細菌は一般的に鉄酸化細菌、もしくは鉄酸化菌、鉄酸化バクテリア、鉄バクテリアなどと呼ばれている。鉄酸化細菌の多くは化学合成独立栄養性であり、光エネルギーに依存しない化学合成生態系の中で一次生産者としての役割を担っている。また、中性 pH かつ微好気環境に生息する鉄酸化細菌には、らせん状のストーク (莖) と呼ばれる特徴的な細胞外構造体を産出する種が含まれる (Emerson *et al.*, 2010)。鉄酸化細菌研究の歴史は古く、例えば *Gallionella ferruginea* は 150 年以上前に発見され、50 年以上前にはこの種が産出するらせん状の細胞外構造体の電子顕微鏡像が報告されている (Vatter and Wolfe, 1956)。このらせん状の細胞外構造体は多糖類で構成されており、酸化鉄を吸着することがわかっている (Chan *et al.*, 2009)。酸化鉄が付着した細胞外多糖類は BIOS (Biogenic iron oxides) と呼ばれる。この BIOS には鉄以外にもさまざまな金属元素を吸着する作用があり (例えば Langley *et al.*, 2009)、環境工学的な応用も期待される。しかしながら、微好気性鉄酸化細菌はいわゆる「難培養性微生物」の代表格の一つであり、特にらせん状の細胞外構造体を産出する分離種は極めて少ない。それ故、その生理生態や系統分類の研究はほとんど進んでいないのが現状である。自然界における鉄循環の解明や BIOS を用いた金属回収技術の開発には、分離株を用いた基礎研究が必要不可欠である。

本研究において、我々は淡水性の湧水地から鉄酸化独立栄養性細菌 OYT1 株を分離することに成功した。電子顕微鏡観察の結果、OYT1 株はらせん状の細胞外構造体を産出することがわかった。レクチン染色により、この構造体は多糖類で構成されていることも明らかになった。*G. ferruginea* の 16S rRNA 遺伝子配列との相同性は 92.9% であり、OYT1 株は属レベルで新規の細菌であることが示唆された。本発表では、OYT1 株の性状解析の結果をもとに、微好気性環境に生育する鉄酸化細菌の生理生態および系統分類について議論する。

O-3 せんだんごに生息する食物繊維分解微生物

○熊谷浩一¹, 田中尚人², 渡辺麻衣子³, 梶川揚申¹, 佐藤英一¹, 小西良子³, 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, ³国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部

【目的】長崎県・対馬地方の「せんだんご」は冬季にサツマイモを浸漬させた後、だんご状に成型し約1カ月の発酵工程を経て製造される。製造の際にはサツマイモに多種多様な微生物が増殖し、デンプンや食物繊維を分解することで特有な物性が生じる。これまでに一般細菌の *Bacillus* 属, *Paenibacillus* 属と、カビの *Mucor* 属, *Penicillium* 属が発酵工程中の主要なデンプン分解微生物であることを明らかとしてきた¹⁾。そこで本研究ではせんだんごの製造でもう一つ重要な食物繊維の分解に関与する微生物を明らかとすることを目的とした。

【方法・結果】供試菌株には2008年～2011年に採取したせんだんご製造工程中の試料より分離した一般細菌491株, 酵母87株, カビ142株を用いた。

分離株の食物繊維分解能を検討するため、CMC (carboxymethylcellulose), ペクチン, キシランをそれぞれ含む寒天培地を用い、ハコ形成試験を行った。食物繊維分解能を有した一般細菌については16S rDNA塩基配列, 酵母は26S rDNA D1/D2領域の塩基配列, カビはITS領域, またはβ-チューブリン遺伝子の塩基配列に基づき各々同定した。その結果, 一般細菌では108株に食物繊維分解能が認められ, その多くはCMC分解株であり, なかでも毎年の浸漬や発酵工程試料から分離された株は *Bacillus* 属や *Paenibacillus* 属, *Pseudomonas* 属であった。一方, 酵母は主に浸漬工程の21株がペクチン分解能を有し, その全てが *Saccharomyces* 属であった。そして, カビでは全株に食物繊維分解能が認められ, 毎年の発酵工程から分離された *Mucor* 属はペクチンの分解能を有し, *Penicillium* 属はCMC, ペクチン, キシランの分解能を有した。

せんだんごの製造工程において, 浸漬工程では大きな物性の変化が生じないため, 酵母は食物繊維の分解に大きく関与せず, 発酵工程中より分離された食物繊維やデンプンの分解能を有する *Bacillus* 属, *Paenibacillus* 属, *Mucor* 属, *Penicillium* 属がせんだんご特有な物性変化に主要に関与すると考えられる。

1) 熊谷ら 日本微生物資源学会第19回大会 p. 63.

O-4 レタス栽培圃場土から分離した *Mirafiori lettuce big-vein virus* 媒介菌 *Olpidium virulentus* (Sahtiy.) Karling

○野見山孝司¹, 笹谷孝英², 大崎秀樹¹, 石川浩一¹, 富岡啓介¹, 関口博之¹, 宮川久義¹, 竹原利明¹

¹農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター, ²農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター

土壤伝染性のウイルス病害であるビッグベイン病が発症したレタスは, 葉脈周縁部が白く退色する(葉脈が大きく見えるようになる)ために商品価値が低下し, 病徴が激しい場合は生育不良で結球せず収量低下に至る。本病は, 日本では1970年代に和歌山県で初めて確認され, その後, 1990年代中頃から近畿地域と四国地域の一部の冬春レタス産地を中心に発生が顕著となり, 現在, 中四国地域や関東地域でも被害が認められている。本病の病原は, *Ophioviridae* 科 *Ophiovirus* 属の *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV) である。MiLBVVは *Olpidiaceae* に属する土壤生息菌 *Olpidium virulentus* (Sahtiy.) Karling の菌体内に存在し, 本菌がレタス根に感染する際に媒介される。本菌の耐久器官である休眠胞子は, MiLBVVを保毒したまま土壤中で10年以上生息できるとの報告がある。*O. virulentus*は, MiLBVVのほかにも, *Lettuce big-vein associated virus*, *Tulip mild mottle mosaic virus*, *Tobacco necrosis virus* 等の複数種の植物ウイルスを媒介するため, 農業生産において警戒度が高いものの, 人工培養できない絶対寄生菌であるため, 防除策の検討にあたって求められる生理・生態学的な特性の一層の解明ならびに微生物遺伝資源としてのコレクション化が急がれている。そこで, 今回, 兵庫県, 香川県, 徳島県, 岡山県および千葉県レタス栽培圃場土から, 常法により, 複数の *O. virulentus* 単遊走子の分離菌株を得た。MiLBVVを保毒させた各菌株を健全なレタスに接種すると, ビッグベイン病の症状が再現できた。菌株間にはMiLBVVを取り込む時期あるいは程度に差があることを示唆するデータを得た。また, 兵庫県と香川県由来の菌株について, レタス以外の植物への寄生を調べた結果, 既報と同様に, ササゲ, マクワウリおよびイネへの感染を認めた。今後, 今回の分離菌株を用いて, *O. virulentus*の生理・生態学的な特性の解明やレタスビッグベイン病防除法に係る研究を進める。一部の菌株は微生物遺伝資源として農業生物資源バンクに新規登録する予定である。

0-5 微生物資源の保全と持続可能な利用のためのアジア連携の重要性—Asian Consortium for the Conservation and Sustainable Use of Microbial Resources (ACM) 活動—

○川崎浩子, 関川智洋, 船曳理恵, 宮下美香, 伏見早百合, 安藤勝彦, 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)

ACM (微生物資源の保存と持続可能な利用のためのアジア・コンソーシアム) は, アジア各国の生物遺伝資源の研究者や, その利用に係る研究開発政策担当機関との意見交換ならびに交流の緊密化・活発化を通じて, 各国関係者間の理解を深め, 生物多様性条約 (CBD) の枠組みの中でアジアを中心とした生物遺伝資源の保存とその有効利用を図るため, 平成15年度末に12カ国の機関で結成した. 発足から10年を経て, ACMはアジア各国との信頼性に基づく連携体制を維持, 構築する場となっており, 現在3つのタスクフォース (TF) が設けられそれぞれ活動している. 現在のメンバーは, 中国, カンボジア, インド, インドネシア, 日本 (JCMとNBRC), 韓国, ラオス, マレーシア, モンゴル, ミャンマー, フィリピン, タイ, ベトナムの13カ国22機関である. 活動内容は, アジアBRCネットワーク (ABRCN) TF, 人材育成 (HRD) TF, 生物資源移転管理 (MMT) TF, 年次会合, シンポジウム開催である.

ABRCN—TFでは, データベースの整備 (<http://www.abrcn.net/search.html>) を行い, 収集した情報の活用 of 試験的取組み, またWFCC/WDCMへの協力を行っている. HRD—TFでは, ワークショップの実施, シンポジウム等への若手研究者の派遣を行っている. 平成24年度はNBRCで「食品安全のための微生物迅速同定法に関するACM国際トレーニングワークショップ」を開催した. MMT-TFでは, ACM機関間の材料移転管理のためのガイドラインとスタンダードMTAの作成を行った. 現在は, 名古屋議定書に則したBRC運営と生物遺伝資源移転管理のあり方について議論を開始し, 新たな移転メカニズムの構築を目指している.

名古屋議定書が採択され, さらに生息域外コレクション (微生物保存機関) は重要な役割を担うことが予想される. ヨーロッパ委員会が提案したABSに関するEU規制案では“Trusted Collection”という概念が提案されているところである. 微生物資源の保全と持続可能な利用のためには, 微生物保全機関の活動と連携が必須であり, それは日本, アジア, 世界のそれぞれの連携が必要である. 多くの方々にACM活動にご賛同いただき, アジアの微生物資源の保全と持続可能な利用にご協力いただきたいと切に願っている.

0-6 培養非依存の手法による土壤細菌集団内におけるプラスミドの宿主域の決定

○新谷政己^{1,2}, 松井一泰³, 井上潤一¹, 細山 哲⁴, 黄地祥子⁴, 山副敦司⁴, 野尻秀昭³, 金原和秀², 大熊盛也¹

¹ 理研BRC-JCM, ² 静岡大学大学院工学研究科, ³ 東京大学生物生産工学研究センター, ⁴ 製品評価技術基盤機構

プラスミドは様々な細菌間を移動可能な遺伝因子であり, 微生物はプラスミドを介して抗生物質耐性遺伝子, 病原性遺伝子, 物質代謝遺伝子等を獲得することで新たな形質を得る. プラスミドを受け取る細菌の種類 (= 宿主域) については, 古くより重要な性質として調べられてきた. しかしこれらの宿主域は供与菌・受容菌一種類ずつを選択し, 培養を介した接合実験によって決定されており, 未培養・難培養性の細菌を多数含む自然環境のプラスミドの宿主域を正確に反映しない可能性が高い. そこで本研究では, 培養を介さずにプラスミドの宿主を決定する手法により, 土壤細菌集団内におけるプラスミドの「真の」宿主域の決定を試みた. 宿主域の異なるとされる3種のプラスミド pBP136, NAH7, pCAR1 を解析対象とし, 供与菌と土壤微生物集団とを混合した. 接合伝達体は緑色蛍光色素を指標としたフローサイトメトリーによって一細胞ずつ検出・分離し, 得られた一細胞から phi29 DNA ポリメラーゼによって全ゲノムの増幅を行った. その後, 各プラスミドの有無をPCRで確認し, 16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列を解読して, 接合伝達体を属レベルで同定した. その結果, pBP136の宿主として *Proteobacteria* 門に属する様々な細菌の他に, 従来得られなかった他の門に属する細菌も検出された. 一方 pCAR1 と NAH7 については *Gammaproteobacteria* 綱の *Pseudomonas* 属細菌が主要な宿主として得られたが, 新たに *Betaproteobacteria* 綱の *Delftia* 属細菌も宿主として検出された. pCAR1 について, *Delftia* 属細菌の基準株を用いた接合実験を行ったところ, 培養を介する従来法では接合伝達体を得られなかったが, fluorescence *in situ* hybridization 法によって, pCAR1 を有する *Delftia* 属細菌細胞を検出することに成功した. *Delftia* 属細菌は pCAR1 の「一過的な」宿主と考えられ, プラスミドの宿主域は既知のものより広いことが示唆された. 本研究の手法・成果は, プラスミドを人為的なツールとして利用可能な細菌の範囲を決めるのにも重要であると考えられる.

O-7 微細緑藻ボルボックスから発見されたリケッチア “MIDORIKO” の共生と痕跡

○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 東京工業大学大学院生命理工学研究科生体システム専攻,

³ 京都大学大学院理学研究科生物科学専攻

リケッチア (リケッチア科 *Rickettsiaceae*) の多くは節足動物の細胞に共生し、ヒトへの感染により重篤な感染症を引き起こすため病理医学的研究が活発に行われている一方、リケッチアは自然状態での宿主細胞と同時に培養することが困難であるため宿主-共生体間の遺伝子水平移動に関する研究は立ち遅れている。我々は先行研究において、植物細胞内に共生するリケッチア “MIDORIKO” を初めて発見した (Kawafune *et al.* 2012, PLoS ONE 7: e31749)。MIDORIKO の宿主は培養が容易である淡水微細緑藻、単細胞のカルテリア及び群体のプレオドリナ (緑藻ボルボックス目) であり、本材料を用いた今後の研究が期待される。MIDORIKO は宿主系統上ではごく限られた株のみに存在していたため、宿主緑藻に対する MIDORIKO の感染は独立に起こったと推測された (Kawafune *et al.* 2012)。

我々は、モデル生物である群体性緑藻ボルボックス *Volvox carteri* について、細胞内バクテリアを同定し、株ごとの有無を調べた。V. *carteri* の細胞内バクテリアは、UTEX 2180 で存在が報告されて以来 40 年以上性状が不明であった (Kochert & Olson 1970 Trans. Am. Micros. Soc.)。今回、16S rRNA 系統解析及び特異的プローブを用いた蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションの結果、UTEX 2180 の細胞内バクテリアがリケッチア科に含まれ、プレオドリナ由来の MIDORIKO と単系統をなすことが判明した (以降、UTEX2180 の細胞内バクテリアも MIDORIKO と呼ぶ)。また DAPI 染色とゲノム PCR の結果、先行研究と同様に MIDORIKO が検出された株は調査した V. *carteri* 9 株中 UTEX2180 の 1 株のみであった。一方、V. *carteri* の MIDORIKO を保有しない株 Eve 由来の全ゲノムデータベース検索と、ゲノム PCR の結果、MIDORIKO を保有しない V. *carteri* 8 株から MIDORIKO 由来と考えられるゲノム DNA 配列断片が確認された。遺伝子配列の断片化の程度は株の系統ごとに異なっていたが、遺伝子の種類はある程度共通していた。これらの結果は MIDORIKO が共生体として保持されるだけでなく共生後に消失しうることを示唆している。

O-8 1 細胞レベルで解析するシロアリ腸内微生物叢

○雪 真弘¹, 新谷政己^{2,3}, 大熊盛也^{1,3}

¹ 理研バイオマス工学研究プログラム, ² 静岡大学大学院工学研究科, ³ 理研 BRC-JCM

シロアリ腸内には多種多様な微生物が共生している。その多くが難培養性であるため、メタゲノム解析やメタ EST 解析など培養を介さない手法を用いて、シロアリ腸内微生物群全体の解析が進められている。そのため、共生する個々の微生物種がシロアリ腸内においてどのような役割を担っているのかは、一部をのぞきほとんど解明されていないのが現状である。本研究では、原生動物と細菌が混在した腸液から細菌のみを 1 細胞毎に単離する手法を確立し、これまで解析されていなかった個々の細菌種の共生系における機能を解明することを目指した。

ヤマトシロアリの腸内共生微生物を蛍光標識試薬で染め、フローサイトメーターで 96 ウェルプレートに 1 細胞ずつ分離した。次に Phi29DNA ポリメラーゼを用いた等温ゲノム増幅法で 1 細胞から全ゲノムを増幅し、これを鋳型にユニバーサルプライマーを用いて PCR により 16S rRNA 遺伝子を増幅した。増幅が確認されたサンプルはダイレクトシーケンスにより配列を決定した。さらにシーケンスの評価で使用される Phred スコアを指標に、得られた波形データの評価を行い、1 細胞から増幅した可能性が高いサンプルを選択した。選択したゲノム増幅サンプルを用いて、窒素固定遺伝子 *nifH* などの機能性遺伝子の増幅を行った。現在までに、588 個の増幅ゲノムサンプルから、16S rRNA 遺伝子の増幅が確認されたのが約 43% にあたる 253 個であった。そのうち 1 細胞からの増幅が確認できたのは 115 個であった。このサンプルを用いて *nifH* 遺伝子の増幅を行った結果、少なくとも 1 種の細菌種から増幅が確認された。これらの結果から原生動物、細菌が混在した腸液より細菌のみを 1 細胞で取り出す手法を確立することに成功したと考えられる。今回構築した手法を様々な難培養で複雑な微生物群集に対して応用することにより、これまで困難であった個々の細菌種の機能を 1 細胞レベルで解析することが可能になると同時に難培養の微生物の資源化にも結びつくことが期待できる。

0-9 ハプト藻保存株の凍結保存と生存検査向上の取り組み

○森 史¹, ノエル マリーエレン², 湯本康盛¹, 石本美和¹, 河地正伸²
¹地球・人間環境フォーラム, ²国立環境研究所

国立環境研究所微生物系統保存施設 (MCC-NIES) ではこれまで、シアノバクテリア, 単細胞性の緑藻や紅藻, 絶滅危惧種の淡水産紅藻を中心に凍結保存を進めてきた。これらは凍結・解凍後の生存率が 50% 以上と高く, 安定的に凍結保存可能な株である。現在は保存株の 3 分の 1 に相当する 1,018 株が凍結保存に移行されている。更に凍結保存への移行を進めるにあたり, 今回はハプト藻の凍結保存条件と生存検査の検討を行った。

ハプト藻は, ハプト植物門に属する微細藻類で, 鞭毛に類似するハプトネマと呼ばれる構造を有することや, 有機質鱗片や炭酸カルシウムでできた特徴的な円盤状の鱗片で細胞が覆われるといった特徴をもつ。また, 海洋を中心に豊富に生息し, 炭素循環や硫黄循環に大きく寄与する重要な植物プランクトンとしても知られている。一方, 細胞が壊れやすく培養困難な種が多く含まれており, 長期の継代培養で細胞ステージの変化や円石形成能の喪失なども認められていることから, 培養法の改善や凍結保存への移行が必要な藻類グループである。

本研究では, ハプト藻の円石藻 2 種, *Emiliania huxleyi* (NIES-837) と *Gephyrocapsa oceanica* (NIES-838) を対象として, プログラムフリーザーを用いた二段階凍結法で, まず最適な保護剤 (DMSO, メタノール, グリセロール) の選定を行い, DMSO が最も有効であることがわかった。そして更に条件検討した結果, DMSO 濃度 5%, 塩濃度 32%, ソルビトール 0.5M の条件において, 高い再現性で 2 種の生存を確認することができた。MCC-NIES ではこれまで, 生存率測定に FDA 染色法による計数結果を用いてきたが, 藻類種によって染色効率が大きく異なること, また数%程度の低生存率株では, 培養による復帰の再現性が悪くなる等の問題が認められていた。今回, 円石藻 2 種について, 希釈培養と MPN (最確数) 法で生存率を推定し, 凍結実験結果の評価を行った結果, 低生存率であっても再現性良く増殖・復帰することが判明した。細胞密度, 保管・解凍条件等が生存率に与える影響について, 今後更に調査・検討を行う必要があるが, 低生存率の株であっても, 生存検査の精度向上により, 凍結保存への移行は十分可能なことが示唆された。

ポスター発表

P-1 *Porphyromonas cansulci* は *Porphyromonas crevioricanis* のシノニムである

○坂本光央, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

【目的】 イヌの口腔から分離された *Porphyromonas crevioricanis* (Hirasawa & Takada, 1994) と *Porphyromonas cansulci* (Collins *et al.*, 1994) の2種の16S rRNA 遺伝子の塩基配列の類似度は99.9%と非常に高く、同種であることが示唆されている¹⁾。本研究では両菌種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】 *P. crevioricanis* JCM 15906^T および *P. cansulci* JCM 13913^T について、16S rRNA 遺伝子以外に *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るとともにDNA-DNA 相同試験を行った。

【結果および考察】 *hsp60* 遺伝子の塩基配列を決定した結果、種間の類似度は100%を示した。両菌種の主要な菌体脂肪酸は iso-C_{15:0}、メナキノン MK-9 と MK-10 であり、生理・生化学的性状が非常に類似していた。さらにDNA-DNA 相同試験の結果、両菌種は91%以上の相同値を示した。以上の結果より、*P. cansulci* は発表の優先権のある *P. crevioricanis* の異タイプ異名 (heterotypic synonym) であることが明らかになった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) Sakamoto & Ohkuma (2010) J. Med. Microbiol., 59, 1293-1302.

2) Sakamoto & Ohkuma (2013) Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 63, 454-457.

P-2 黒麹菌関連株に関する問い合わせ対応、ならびにそれらの系統分類に関する最近の動向

○岡田 元, 飯田敏也, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

黒麹菌関連株 (JCM 2261, JCM 2262) の履歴についてユーザーから問い合わせを受けた。これら2株は1983年にIAMから入手した株であるが、2007年に移管されたIAM移管株にも含まれていた。JCMではこれらの学名、他機関番号、株データなどを整備して今まで公開していたが、他機関における同等株のデータも含め、学名と他機関番号について不統一や矛盾があることが今回判明した。そこで、JCMの受入記録、文献、リボソームRNA 遺伝子配列などを調査した結果、以下の様に取り扱うべきであるとの結論に達した。また、黒麹菌の系統分類に関する最近の知見と動向についても併せて紹介する。

Aspergillus awamori Nakazawa 1907

JCM 2261 ← IAM 2112 ← ATU, BL-5-9 ← BATU ← GRIF (R. Nakazawa α).
= IAM 2112, = JCM 22271.

Type: ex-type (Nakazawa 1916).

Former name: *Aspergillus niger* var. *awamori*.

Aspergillus usamii Sakaguchi, Iizuka & S. Yamazaki ex Iizuka & Sugiyama 1965

JCM 2262 ← IAM 2185 ← ATU, Kuro-koji-1-1 ← K. Sakaguchi et al. R-0635.

= ATCC 11364, = ATCC 14331, = BCRC 31509, = CBS 139.52, = IAM 14875, = IAM 2185, = IFO 4388, = JCM 22291, = JCM 23176, = NBRC 4388, = QM 8164, = WB 4760.

Type: ex-type (Sakaguchi et al. 1950, Iizuka and Sugiyama 1965).

Former name: *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger* var. *usamii*.

調査の機会と情報をいただいた山田 修 (酒総研), 五味勝也 (東北大) の両氏に感謝いたします。

P-3 枯草菌を比較対照とした納豆菌の欠損ファージの分析

○永井利郎, 富岡啓介*, 一木(植原)珠樹, 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 (*現:農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター)

【目的】枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の1菌株である Marburg は、菌体外に欠損ファージ PBSX を放出する。PBSX の構造や複製に関わる遺伝子は枯草菌の染色体 DNA 上にコードされているが、それらがうまく切りだされて PBSX の頭部に格納されることは無い。その代わりに PBSX は、枯草菌の染色体 DNA から 13.5 kb 長にランダムに切りだした DNA 断片を頭部に格納している。そのため PBSX は宿主細胞に感染したとしても増殖することはできない。欠損ファージは枯草菌 W23 をはじめとする他の枯草菌菌株でも発見されてきた。納豆菌でも IAM 1207 が PBSX に類似の欠損ファージ PBN8 を生産することが報告されている。農業生物資源遺伝子バンクには、3種類の納豆種菌から分離された、納豆生産能を有する菌株 (MAFF 118100, MAFF 118103 及び MAFF 118105) が保存されているが、今回、これら納豆菌、枯草菌 Marburg 及び W23 の欠損ファージを分離し、それらの諸性質を調べたので報告する。

【方法】それぞれの菌株を LB 液体培地 (10 mM MgSO₄ を含む) で培養し、ポリエチレングリコール-NaCl 沈殿法により欠損ファージを回収した。ファージ粒子は、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 の分離やその解析は常法に従った。

【結果と考察】MAFF の納豆種菌3株と枯草菌 W23 は、PBSX に類似の、直径 40 nm の頭部と細長い尾部 (18 nm×270 nm) を有する欠損ファージを生産した。尾部の長さは PBSX の 220 nm に比べ 50 nm 長かった。PBSX を含めいずれの欠損ファージも 13.5 kb の長さの DNA 断片を有していた。納豆菌 (IAM 1207) 欠損ファージは 8 kb の DNA 断片を保有すると報告されていたが、本研究で納豆菌 IAM 1207 から分離した欠損ファージは 13.5 kb の DNA 断片を保有していた。IAM 1207 は2種類の欠損ファージを生産する可能性もあるが、その詳細は今後検討したい。納豆菌 BEST195 (MAFF 118100 と同じ納豆種菌より分離) と枯草菌 Marburg 及び W23 の染色体 DNA の全塩基配列は別の研究グループにより決定されており、それぞれの欠損ファージ関連遺伝子も特定されている。それら菌株間の欠損ファージ関連遺伝子の相同性を調べたところ、納豆菌 BEST195 の欠損ファージ関連遺伝子の多くは W23 よりも Marburg のものとの相同性が高かった。しかしながら、いくつかの遺伝子に関しては逆に W23 の方が高い相同性を示した。W23 と納豆菌の欠損ファージの尾部の長さが同じであったことから、これら遺伝子が尾部の長さ (もしくは構造) の決定に関与しているのかもしれない。

P-4 *Stenotrophomonas maltophilia* の分類学的研究

○黒川祐菜¹, 田中尚人¹, 飯野隆夫², 大熊盛也², 梶川揚申³, 佐藤英一³, 岡田早苗³

¹東京農業大学応用生物科学部菌株保存室, ²理研 BRC-JCM, ³東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科

【目的】*Stenotrophomonas* 属は近年多くの種が提案されている。基準種の *Stenotrophomonas maltophilia* は長年本属唯一の種とされてきた。種の特徴としてメチオニンの要求性や強力なパーゼ活性などを示すとされているが例外の株も存在し、さらに種内のゲノム構造の違いも報告されている。このことから、本種とされる株にも他種の混在の可能性も考えられる。そこで本研究では、*S. maltophilia* の分類学的特徴を明確にするために本種内の再分類を行うこととした。

【方法および結果】供試菌株 106 株の系統関係を 16S rRNA 遺伝子により調べた結果、*Stenotrophomonas terrae* などに近縁の7株 (グループ1) と *Stenotrophomonas rhizophila* に近縁の6株 (グループ2) が存在することを確認した。

グループ1である7株はメチオニン非要求性で、さらに本グループは系統的に3つのクラスター (A, B, C) に分かれることが確認された。クラスター A の3株は、DNA-DNA 相同性と表現型の結果から *S. terrae* であると同定した。クラスター B の1株は、*Stenotrophomonas nitritireducens* JCM 13311^T を始めとした 16S rRNA 遺伝子で高い相同性を示したすべての近縁種および *S. maltophilia* 基準株と DNA-DNA 相同性が低く、表現型も一致しなかったことから新種であると考えられた。クラスター C の3株の 16S rRNA 遺伝子は *S. terrae* DSM 18941^T と最も相同性が高かったが、これらの株は *S. terrae* および *S. maltophilia* の各基準株との DNA-DNA 相同性は低く、表現型も異なることから新種と考えられた。

S. rhizophila JCM 13333^T と近縁のグループ2については、分離源や系統関係などから4株を選抜した。4株は DNA-DNA 相同性および表現型試験の結果、*S. rhizophila* であると同定した。ただし、糖類資化能などでどの株とも異なる性質を示す株も存在した。

以上より、*S. maltophilia* の例外的な性質を持つ株を再分類し、本種の特徴をより明確にした。

P-5 糠床から分離した新規乳酸菌の分類学的研究

○入澤友啓¹, 北原真樹¹, 坂本光央¹, 田中尚人², 岡田早苗³, 大熊盛也¹

¹ 理研 BRC-JCM, ² 東京農業大学応用生物科学部菌株保存室, ³ 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科

ぬか漬けは古くから伝わる発酵食品の一つであり、今日まで長く愛されてきた。ぬか漬けをつくるには米糠に食塩と適度な水を加えた糠床が必要であり、この糠床が酵母や乳酸菌の発酵の場となっている。糠床に生息する乳酸菌のほとんどが *Lactobacillus* 属乳酸菌であるが、その中には既知の乳酸菌とは分類学的に異なる新規乳酸菌も多く生息していることがこれまでの研究から示唆されている。一般的に乳酸菌の分離に用いられる MRS 培地では分離株の多くが既存の乳酸菌となると考え、SI 培地や Kunkee 培地といったエタノールを含む培地にて分離を行った。その結果、分離菌株の中から 5 株の新規乳酸菌の候補株 (Nu-9, Nu-27, Nu-29, Nu-67, Nu-68) をみいだした。本研究では新規乳酸菌の候補株について詳細な分類学的研究を行い、同定を行うことを目的とした。

分離株 5 株はグラム陽性、カタラーゼ陰性の桿菌であった。16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析の結果から Nu-9, Nu-67, Nu-68 は *L. buchneri* グループに属し、近縁種は *L. acidifarinae* (98.2%) であった (Group I)。また、Nu-27, Nu-29 は *L. alimentarius* - *L. farciminis* グループに属し、近縁種は *L. versmoldensis* (98.9%) であった (Group II)。さらに *phe S* および *rpo A* 遺伝子の塩基配列についても同様に Group I, Group II ともに既知の近縁種と低い相同性を示した。DNA-DNA hybridization においても既知種との相同性が 70% 以下であった。この他にも GC 含量、菌体脂肪酸組成、表現性状、生理性化学性状試験など種々の試験により近縁種との鑑別性状を明らかにした。以上の結果から本研究で用いた 5 株は 2 種の新規乳酸菌であることが明らかとなった。

P-6 ピーマンの実腐病を引き起こす *Fusarium incarnatum*/*F. equiseti* 種複合体の一菌種

○富岡啓介¹, 青木孝之², 永井利郎², 澤田宏之², 佐藤豊三²

¹ 農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター, ² 農業生物資源研究所遺伝資源センター

先にピーマン (*Capsicum annuum* L. var. *grossum* Sendtner) の実腐病が報告されたが、その原因菌は当初 *Fusarium lateritium* Nees と同定されていた (Tomioka *et al.* 2002; Tomioka and Sato 2004; Tomioka 2005)。しかし、Histone H3, Translation elongation factor 1- α 両遺伝子領域および Ribosomal internal transcribed spacer 領域に基づく分子系統解析を通じ、その病原菌株 MAFF 238882 は *F. lateritium* ではなく、*F. incarnatum* (Desmazieres) Saccardo あるいは *F. equiseti* (Corda) Saccardo に近縁な *F. incarnatum*/*F. equiseti* 種複合体に属する一種として再同定された (Tomioka *et al.* 2010)。MAFF 238882 は分生子等の形態や培養特性は、*F. incarnatum* の定義に合致する。本菌株は *F. incarnatum* と同定された他の MAFF 保存菌株 (MAFF 236532, MAFF 240355 および MAFF 240364) と同様に、気中菌糸上の分生子柄上に多隔壁分生子を出芽型に生じる。*F. equiseti* は気中菌糸上に分生子を形成せず、多隔壁分生子はフィアロ型のみ形成様式である (Leslie and Summerell 2006) ことから、MAFF 238882 を *F. incarnatum* と仮に同定したが、*F. incarnatum*/*F. equiseti* 種複合体の分類はまだ未完である。ピーマンに病害を引き起こす病原種は数多く報告されているが、*F. incarnatum* (あるいは *F. incarnatum*/*F. equiseti* 種複合体) による病害については我が国では報告がないことから、本菌は我が国におけるピーマン病害の病原の 1 つに含まれることになる。MAFF 238882 ほか、本研究で用いた菌株は農業生物資源ジーンバンクより公開されている (http://www.gene.affrc.go.jp/index_en.php)。

P-7 *Leuconostoc mesenteroides* の亜種間の MLSA 解析

○八木裕介¹, 田中尚人², 佐藤英一¹, 梶川揚申¹, 瀬戸泰幸³, 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, ³雪印メグミルク株式会社ミルクサイエンス研究所

【目的】*Leuconostoc mesenteroides* は植物や発酵食品などに生息する乳酸菌である。本種は産業的に有用なデキストラン産生能を含む表現性状に基づき *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Leu. mesenteroides* subsp. *suionicum* の4亜種に分類されている。しかし、これら4亜種の分別性状は明確でなく、表現性状による分類基準や分類学的位置付けに疑問がもたれている。

そこで本研究では、本菌種の亜種分類について遺伝子解析による分類学的知見が必要であると考え、遺伝型による進化系統に基づく亜種分類の可能性について検討した。

【方法・結果】本研究では *Leu. mesenteroides* の亜種である基準株4株と発酵食品、植物、乳関連試料由来の分離株34株を用いた。解析には housekeeping 遺伝子7つを選抜し、multilocus sequence analysis (MLSA) 法を用いた。各遺伝子の塩基配列を決定後、concatenated 配列を作成し、比較した結果、23パターンの配列が見られた。そこで、基準株間の進化系統関係を推定するため、基準株の ST を NeighborNet 法と最小全域木法により解析した。その結果、4亜種は種内でも進化的に独立した系統である可能性が高いことが推定された。次に、分離株を加え NeighborNet 法と NJ 法により解析した。その結果、*Leu. mesenteroides* subsp. *suionicum* は完全に独立し、この系統群には発酵食品由来株が属した。同様に、*Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* も独立し、チーズ由来株が属した。*Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum* は、分離株は属さず系統的には独立していた。また、*Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* は進化的に多様なネットワークを形成する独立した系統群に含まれ、3種の分離源由来株が属した。これらのことから、本菌種は MLSA 法を用いた遺伝子解析により4亜種に分類できる可能性が明らかとなった。

P-8 メタン発酵液から集積培養した *Thermoplasma* 綱の新規メタン生成古細菌 *Candidatus Methanogranum caenicola*

○飯野隆夫¹, 玉木秀幸², 玉澤 聡^{2,3}, 上野嘉之⁴, 大熊盛也¹, 鈴木健一朗⁵, 五十嵐泰夫⁶, 春田 伸⁷

¹理研 BRC-JCM, ²産業技術総合研究所, ³筑波大学, ⁴鹿島技術研究所, ⁵製品評価技術基盤機構, ⁶東京大学, ⁷首都大学東京

近年まで、*Thermoplasma* 綱は好気性の好酸性硫酸塩還元菌のみで構成されると考えられてきた。それらは酸性環境や温泉環境といった極限環境に棲息するが、群集構造解析などにより、動物腸管や嫌気発酵槽など様々な環境にも *Thermoplasma* 綱に属する古細菌が棲息し、巨大な系統群を構成することが徐々に明らかとなってきた。しかし、それら古細菌がどのような性状を有し、生態的役割を果たしているか全く不明である。本研究では、メタン発酵リアクターから *Thermoplasma* 綱の未培養系統群に属する新規古細菌を培養することを目的とした。

2004年12月16日に、メタン発酵リアクターから発酵液を収集した。本試料をメタノールと酵母エキスを含む液体培地に接種し、30°Cにて嫌気的に集積培養を行った。集積培養を数回繰り返した後、16S rRNA 遺伝子と *mcrA* 遺伝子のクローン解析を行った。また、特異的プライマーなどを用いて培養液の FISH 解析を行った。培養物中の生成ガスを分析するため、ガスクロマトグラフィー解析を行った。

集積培養液中に新規古細菌 Kjm51a の増殖を確認した。本集積培養物は細菌が混在するものの、Kjm51a 株は古細菌レベルで単一であった。16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析を行った結果、Kjm51a 株は *Thermoplasma* 綱の未培養系統群 Group E2 に含まれた。近縁の培養株は *Methanomassiliicoccus luminyensis* B10^T であったが、相同性は 87.7% であり、属レベルで新規であると考えられた。FISH により Kjm51a 株は球菌であることが明らかとなった。Kjm51a 株は増殖にメタノールと酵母エキスを必須に要求し、集積培養物の気層中に水素とメタンが検出された。2-プロモエタンスルホン酸の添加によって Kjm51a 株の増殖とメタン生成が阻害され、水素量が増加した。これは、細菌が生成した水素を Kjm51a 株が利用したことを意味する。これらのことから、Kjm51a はメタノール還元型の水素資化性メタン生成古細菌であると考えられた。以上の結果から、集積培養した Kjm51a 株に対し *Candidatus Methanogranum caenicola* を提唱する。

P-9 陸上温泉に生息する好熱性微生物の分離試みについて

○大西真史^{1,2}, 高品知典¹, 伊藤 隆², 加藤真悟², 大熊盛也²

¹ 東洋大学大学院, ² 理研 BRC-JCM

【背景・目的】陸上の温泉環境からは、これまで数多くの好熱性微生物が分離されている。近年、培養に依存しない分子生態学的手法の発展に伴い、温泉環境には多種多様な未培養微生物が存在することが明らかにされている。生命の初期進化の解明や耐熱性酵素の産業利用といった、多くの基礎・応用研究の基盤を好熱性微生物の研究が支えている。本研究では、温泉環境から新規の好熱性微生物を分離し、その生理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

【実験方法】栃木県・塩原温泉（74.3℃ pH 2.2）から温泉水を採取し、この温泉水を試料として集積培養を行った。集積培養は、気相、培養温度、pH、栄養条件を変えて30通りの培養条件を設定した。生育が確認できた培養液中の菌叢を確認するため、アーキア及びバクテリアの16S rRNA 遺伝子を標的としたPCRクローン解析を行った。新規性の高い微生物が確認できた集積培養液から、限界希釈法により純化を試みた。分離した微生物株の16S rRNA 遺伝子配列を決定し系統解析を行った。

【結果・考察】集積培養では、30通り中14の培養条件で微生物の生育が確認できた。クローン解析によって、培養された微生物の大部分は既知種に近縁（16S rRNA 遺伝子相同性99%以上）であることが判明した。一例として、バクテリアの *Desulfurella kamchatkensis* は硫黄嫌気、55℃、pH 5.0にて、アーキアの *Thermoplasma acidophilum* は鉄還元嫌気、55℃、pH 2.0等の培地条件で確認できた。両種とも他の培地条件でも生育しており、多様な生育能力を示した。一方、これらの集積培養液中には、既知種とは相同性の低い新規バクテリア及びアーキアがそれぞれ混在していた（16S rRNA 遺伝子相同性82%以下）。系統解析の結果から、新規バクテリア種は *Thermotogae* 門に含まれ、少なくとも属レベルで新規であることが示唆された。集積培養液中では *Desulfurella kamchatkensis* 様細菌が混在していたが、限界希釈法を3度繰り返すことで、この新規バクテリア種を純粋分離することに成功した。現在、本菌株の系統分類学的研究を継続している。

P-10 マングローブに生息する微生物の特性

○荒谷佳佑¹, 田中尚人², 梶川揚申¹, 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】マングローブは熱帯、亜熱帯に分布し、日本でも沖縄などに存在する。生息地は汽水域であり、豊かな生態系を形成し、特有の生物が数多く生息している。また、微生物の生育阻害物質であるタンニンを含む樹木の存在や潮の干満の影響を受けるなどマングローブは森林と異なる環境である。このような生態系の中で分解者として重要な位置を占めるとされる微生物は資源としての潜在的な価値が高いと考えられる。そこで、本研究では、マングローブに生息する微生物の特性を調べることを目的とした。

【方法・結果】試料はマングローブ構成種の4種の各種の葉、樹皮、土壌から採取したもの及び、土中に埋めたマングローブの葉4種、計34サンプルを用いた。また、森林との比較を行うために森林の葉、樹皮、土壌など10サンプルを用いた。各試料を用いて一般細菌の生菌数測定と分離を行った。その後、各分離株のタンニン分解能、タンニンの分解産物である没食子酸の分解能、耐塩性、CMC (carboxymethylcellulose) 含有培地を用いたハコ形成試験によりセルロース分解能を確認した。

生菌数測定の結果、マングローブ、森林ともに $10^3 \sim 10^5$ CFU/gを示し、また、いずれも土壌が最も生菌数が多かった。各種微生物の分離の結果、マングローブ試料から162株、森林試料から68株を分離し、どちらも *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* の各系統群の多種の生息が明らかとなった。各分離株を用いたタンニン分解能は、マングローブ、森林株ともにすべての株が分解能を有したが、没食子酸分解能試験ではすべての株に分解能がなかった。また、塩耐性試験の結果、塩分10%においてマングローブ株では43%、森林株では22%の株が生育した。セルロース分解能試験の結果は、マングローブ株では82%、森林株では22%の株が分解能を有した。さらに、マングローブ株の一部はろ紙崩壊能を有しており、強いセルロース分解能を持つ株がいることが明らかとなった。これらの結果から、マングローブに生息する微生物はその環境に適応するために高い塩耐性やセルロース分解能などを有していると考えられた。

P-11 *Armadillidium vulgare* (オカダンゴムシ) 排泄物の細菌群集解析

○飯田敏也, 大熊盛也
理研 BRC-JCM

【目的】陸上生態系における難分解性の植物遺体分解において、土壤動物は大きな役割を果たしている。植物遺体は土壤動物の摂食により粉碎され、動物腸管内を通過して排泄されるが、その過程で植物遺体に由来する微生物群集構造は大きく変動すると思われる。また、土壤動物排泄物は、土壤細菌による未消化の植物遺体の分解活動の場として重要と考えられるものの、微生物群集の変動等を解析した報告は少ない。本研究では、植物遺体食性土壤動物 *Armadillidium vulgare* (オカダンゴムシ) をモデルとして、その排泄物と周辺環境の細菌群集解析を行い、排泄物を介した土壤動物と土壤細菌の関連性の探索を試みた。

【方法】飼育容器内に土壤、洗浄サクラ落葉、コンクリート製ブロックを入れ、約250個体の *A. vulgare* を12日間飼育した。飼育終了前の2日間にブロック上に排泄された *A. vulgare* 排泄物 (以下 Avf と略す) を採取し、約25 mg 分を160 μ m メッシュのナイロンシートで包み、土壤中またはシャーレ内に静置して、7または21日目に回収した。Avf、サクラ落葉及び土壤由来のDNAを鋳型として細菌の16S rRNA 遺伝子をPCR増幅し、高速シーケンサー GS Junior (Roche) にて塩基配列を得た。配列解析には Mothur 等のソフトウェアを用いた。

【結果・考察】Mothur 処理後の51245配列を以後の解析に用いた。3%の差異に基づく OTU 数は、落葉 762、土壤 1009 に対して、採取直後の Avf は138であった。 α 及び β 多様性の解析から、*A. vulgare* による落葉摂食と排泄の過程で大きく低下した細菌の多様性が、土壤埋設処理により増大したことが示された。この処理により、特に *Sphingobacteriia*, *Deltaproteobacteria*, *Verrucomicrobia* の存在比が増大し、*Gammaproteobacteria* の存在比が大幅に低下した。また、採取直後の Avf において、*A. vulgare* の中腸腺共生細菌と推定される2菌種 (*Candidatus Hepatoplasma* 及び *Ca. Hepatincola*) の配列存在比が22.8%を占めていた。これらの存在比は時間経過により減少したものの、3週間後の Avf 検体中にも存在していたことから、これら共生細菌の伝播に糞食行動の介在が示唆された。

P-12 NBRC の冬虫夏草コレクション

○伴さやか¹, 坂根 健¹, 田淵由美子¹, 島村具仁子¹, 中桐 昭², 鈴木健一朗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 鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センター

2013年2月現在、NBRCでは107種368株のいわゆる冬虫夏草と呼ばれる昆虫病原糸状菌を保存・公開している。一部が漢方薬として利用されるように、新規化合物質のスクリーニング源として注目され、近年は微生物防除資材としての利用も広がりを見せている。この仲間は *Cordyceps*, *Ophiocordyceps* など9属と、関連するアナモルフ15属を含む、形態・生態・系統的に多様性の高い一群である。

我々はこれまでに国内から106種443試料を採取し、うち99種275株の株化に成功した。分離に際しては、菌寄生菌や雑菌が混入する可能性のある組織分離法は避けて、子嚢胞子を顕微鏡下で単離する方法をとった。これにより、生育の遅い *Ophiocordyceps* 属を確実に培養することが可能となった。重複を省いた菌株はNBRCから公開することとし、順次、rDNA (18S, ITS1-5.8S-ITS2, 28S 領域) と RPB1, RPB2, EF-1 α 遺伝子の配列決定を行い、表現形情報を合わせた正確な同定と、この菌群の系統分類学的研究を進めてきた。その結果、これまで正式な発表がない3未記載種および3新種の存在を明らかにし、現在それらの記載を含めた分類学的研究を進行中である。

Polycephalomyces paracuboidea とその近縁種は筆者ら (Ban *et al.*, 2009) がその系統的位置とアナモルフの形態から *Ophiocordyceps* 属に一旦組み込んだが、Kepler ら (in press) により one fungus = one name のルールに基づく属名の優先権の検討がなされ、それまでアナモルフ属であった *Polycephalomyces* 属がこの系統群全ての菌種に適用された。今後もこのような系統群の分割を伴う優先権をもつアナモルフ属の採用が提案され、この菌群の分類学的整理は進むと考えられる。しかし問題は、未だ膨大な数の種がその分類位置が不明のままであることである。この仲間は130種近くが日本から報告されているものの、これらのタイプ標本は半分以上が散逸していた (佐藤ら, 2010)。今後、このような分類位置不明の菌種を再採取し、培養株を得てNBRCコレクションの充実を図るとともに、遺伝子と形態の情報に基づいてこの菌群の系統分類学的研究を進めていく必要がある。

P-13 国立環境研究所における NBRP 藻類リソースの紹介

○志村遥平, 河地正伸
国立環境研究所

藻類は酸素発生型光合成能という特性でくくられる多系統からなる生物グループで、地球上の様々な環境に適応し、生息している。藻類は細胞内共生によるオルガネラの獲得と進化を考える上で重要で、生命現象の理解に欠くことのできない生物群である。また、近年では、天然有用物質を生産する藻類が注目を集めており、生物資源としての期待も大きい。2002年より始まった文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) 藻類の活動の中で、国内における藻類リソースの集約と提供体制の整備、保存株の高品質化等の整備が行われてきた。その結果、微細藻類株は国立環境研究所に、大型海藻株は神戸大学に集約され、現在、総計55綱488属1017種2945株に達する多様な藻類の保存と提供を行う体制が整備されている。国立環境研究所の藻類リソースの特色としては、赤潮やアオコの原因藻、絶滅危惧種である車軸藻が充実していること、また、藻類と近縁の無色原生生物が含まれていることなどがあげられる。また、同種とされる藻類であっても異なる環境から単離された複数の株が保存されているものもある。2012年度から第3期NBRPが始まり、NBRP藻類では、これまでの活動を維持・発展させるとともに、モデル生物や有用物質生産生物等、重要な藻類リソースの拡充と高品質化を図ること、そして生理特性や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。その取組みの一つとして、国立環境研究所では、全保存株の約24% (706株) を占めており、生理的にも形態的にも多様な分類群であるシアノバクテリアについて、形質転換能のスクリーニングと培養株の更なる拡充を進めている。国立環境研究所の藻類リソースの現状とシアノバクテリアリソースの形質転換能スクリーニングの経過、シアノバクテリア新規培養株について、紹介する。

P-14 きのご類遺伝資源を通じたエルサルバドル共和国との研究交流とその成果

○早乙女梢¹, 前川二郎¹, Parada Roxana Y.², 白水 貴¹, Castillo Blanca E.³, 牛島秀爾¹, 中桐 昭¹
¹鳥取大学農学部附属菌類きのご遺伝資源研究センター, ²鳥取大学農学部, ³National Research Center for Agricultural and Forestry Technology

菌類きのご遺伝資源研究センター (FMRC: Fungus/Mushroom Resource and Research Center) では、文部科学省グローバルCOEプログラム「持続性社会構築に向けた菌類きのご資源活用」(2008-2012年度)において、アジアや中南米諸国の研究機関と連携して、菌類きのご遺伝資源の収集・保全と利活用に関する研究を通じた現地での人材育成に努めてきた。研究提携国の一つであるエルサルバドル共和国は、中米の熱帯域に位置し、多様な生物の生息する生物遺伝資源の宝庫として知られており、きのご類についてもその多様性が期待されている。しかし、同国では、きのご類遺伝資源を発掘・分類できる専門家が不足しているために、きのご類の分類学的研究をはじめとする基礎研究は極めて遅れている。エルサルバドル環境省によれば、2005年時点の報告菌類種 (きのご類を含む) は160種に過ぎない。そこで、FMRCはエルサルバドル国立農牧林業技術センター (CENTA: National Research Center for Agricultural and Forestry Technology) との共同研究によって、きのご類遺伝資源の調査収集と分類学的研究、そして、同国におけるきのご類図鑑の作成を目的として取り組んできた。

同国における調査は、2009-2012年の間に7つの国立公園を中心に12地点で実施した。現地では、採集したきのご類の乾燥標本の作製や組織分離法、多孢子分離法による分離作業を行った。これらの乾燥標本の詳細な形態形質や分離菌株のDNA塩基配列 (ITS領域) の解析により、正確な種同定および分類学的検証を行った。

これまでに、木材腐朽性の担子菌きのご類を中心に合計1240標本及び880の分離菌株を得た。標本および菌株の属あるいは種レベルの同定を進め、2013年3月には代表的な86属101種を掲載した図鑑「Mushrooms of El Salvador」を出版した。本プログラムにより、エルサルバドルにおけるきのご類遺伝資源の発掘と利活用に向けた研究基盤が整備できた。収集した標本と菌株の分類学的研究は継続中であるが、中には、食用きのごとして利用可能な種や新規分類群の可能性のある未同定種も含まれていた。今後もCENTAとの協力関係を継続し、分類などの基礎研究だけでなく、きのご類遺伝資源の活用研究に向けても協力していきたいと考える。

P-15 日本植物病名データベース

○佐藤豊三¹, 山崎福容¹, 竹谷 勝¹, 大園麻友¹, 埋橋志穂美², 小林みゆき¹, 熊谷みどり¹, 月星隆雄³, 富岡啓介⁴, 澤田宏之¹, 永井利郎¹, 一木(植原)珠樹¹, 青木孝之¹

¹農業生物資源研究所遺伝資源センター, ² University of Alberta, Canada, ³農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所, ⁴農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター

農業生物資源ジーンバンクでは、植物病害の情報をデータベース化し多様な植物病原微生物およびその宿主植物の配布カタログとリンクして利便性を高めるため、日本植物病名目録初版(日本植物病理学会編、2000年)のデータをリレーショナルデータベースに再構成するとともに、植物・病名・病原をキーワードとする検索機能を付して2009年8月、日本植物病名データベース(病名DB)として公開した。その後、同目録初版以降の追録情報を加え、半年ごとにデータをアップデートしてきた。昨年、病名DBを利用して上記学会との共著で同目録第2版を作成した。その後も改良や検索オプションの追加を経て、現在検索対象病害は約11,400件に上り、また、関連リンク先も8サイトに及び、最近では年間約300万件のアクセスを得ている。病名DBの主なフィールドは、宿主植物*(和名, 学名), 病名[病名異名], 病名読み(ローマ字表記), [病名英名], 病原*[病原異名], 文献*, [備考]である(*は必須, []は任意項目)。公開後、主に以下の改良を加えた。1. データベース:(1) 2つの植物(作物)群に重複して収録されていた同一病害を統合, (2) 植物ウイルス・細菌・糸状菌の学名を上記学会の決定に基づき更新・統一, (3) 備考の記述を簡潔な語句に統一; 2. 検索オプション:(1) 宿主の科名, (2) 宿主の種類(11の作物・植物群), (3) 病原の種類(11種類の伝染性微生物等), (4) 発生区分(国内・国外), (5) 遺伝資源とのリンクの有無。また、以下のサイト・データベースとページレベルでリンクを張った。1. 農業生物資源ジーンバンク内部:(1) 微生物株カタログ(病名DB→微生物株:約8,800株, うち2,700株は相互リンク), (2) 植物遺伝資源検索(32,140件), 2. 外部:道府県などが運営する病害診断・防除関連の8件。

URL: http://www.gene.affrc.go.jp/databases-micro_pl_diseases_en.php

参考文献: 佐藤豊三・山崎福容・竹谷 勝(2013) 進化を続ける日本植物病名データベース。植物防疫 67: 39-43

P-16 石巻専修大学(ISU)コレクション: 来歴, 保存, 特徴と利用, 東日本大震災後の現状(中間報告)

○宮寄 厚, 山崎達也

石巻専修大学理工学部基礎理学科

ISUコレクションは、接合菌類[亜門・綱](現在この分類群は解体されてケカビ亜門が該当)の中でもヒゲカビ(*Phycomyces* 属)野生株およびその標準株からの変異株やそれらの交配株を保存する希少なコレクションである。ヒゲカビは、いわゆる“カビ”において特に大型の種として知られ、直径約100 μm, 高さ10 cm以上にもなる直立無分枝の孢子囊柄を形成する。この孢子囊柄は隔壁のない単細胞性の多核体であるが、光や重力等に敏感に反応して屈性を示すことから、「刺激受容—情報伝達—応答反応」のモデルとして多くの研究に用いられてきた。また、+と-の性を持ち、一連のダイナミックな形態形成を伴う接合(有性生殖)を行うことでも知られる。

宮城県石巻市南境地区の旧北上川沿いに位置している石巻専修大学は、3・11東日本大震災に見舞われたものの蛇行した川の流が幸いしたのか奇跡的に津波の直接波および浸水を免れた。また、4・7余震にも耐えたため実験室にある超低温槽に-80℃で凍結保存されていた本コレクションは流失や破損することはなかったが、ライフラインの分断により11日間に亘る電源の供給停止の状態を余儀なくされた。大震災および津波被害に際し、公益財団法人発酵研究所が日本微生物資源学会に登録する菌株保存機関への支援を表明し、同学会に申請取りまとめを依頼したところ、本コレクションがその支援を受けることになり、全株(届け出菌株数776株)の培養試験が進行している。

本コレクションの保存・管理および分譲事業は、兼任スタッフ1名(宮寄)で運営しているが、今回の支援によりアルバイト1名を確保して培養試験を行っているのが現状である。この機会に改めて、ヒゲカビ小史として保存菌株コレクションの誕生・日本に持ち込まれてからの変遷、保存菌株の特徴と利用、震災の被害を受けた保存菌株の培養試験の現状(中間報告)を紹介する。

P-17 大阪大学工学研究科 OUT における NBRP 酵母事業○金子嘉信², 周 瑩¹, 前川裕美², 原島 俊¹大阪大学工学研究科 ¹生命先端工学専攻, ²酵母リソース工学寄附講座

大阪大学工学研究科での微生物保存の源をたどれば、大正時代までさかのぼり、大阪高等工業学校醸造科での学生実験用菌株の保存が始まりではないと言われていた。昭和に入り、1929年に大阪工業大学醸造学科となり南満州鉄道(株)中央試験所の菌株が加わって本格的な保存事業になったと伝えられている。太平洋戦争を経て新制大阪大学工学部醸酵工学科時代になると日本微生物株保存連盟の一員として工業微生物株の保存体制が再構築された。その後、幸いにも事業は引き続き継続されており、2002年には文部科学省のライフサイエンス研究基盤整備のためのナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)に採択され、保存事業の軸足を酵母の遺伝研究株とその遺伝子クローンの収集・保存・提供に移している。日本微生物資源学会の事業報告のうち、酵母と細菌の保存数は2007年度からNBRPで取り扱っている保存株数を報告している。また、2011年10月には、継続が危ぶまれていた第3期NBRPを考慮して応募した公益財団法人発酵研究所の寄付講座助成に採択され、事業基盤を固め、酵母リソース工学寄附講座として現在第3期NBRP酵母事業を推進している。2013年2月末での保有数は、酵母24,534、遺伝子クローン4,235である。2012年度提供数は2013年2月末で菌株448、遺伝子クローン278で、2011年度提供実績の1.1倍となり微増している。このうち海外研究者への提供は、それぞれ21%と51%の割合を占め、提供国数は18カ国であった。第3期NBRPでは、酵母リソース工学寄附講座で進める酵母リソース開発成果を取り入れつつ、ドイツの同様な酵母リソース事業機関であるEUROSCARFとの連携についても模索しようと考えている。

P-18 NIES 藻類コレクションの2012年度の活動と展望○河地正伸¹, 佐藤真由美¹, ノエル マリエーレン¹, 森 史², 湯本康盛², 石本美和²¹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(MCC-NIES)では、シアノバクテリア、真核性微細藻類、プロティスト、淡水産の絶滅危惧藻類等の保存株3,018株が系統保存され、そのうち2,339株が分譲用に公開されている。MCC-NIESは1983年に環境研究推進のための藻類保存施設として設立され、2002年以降は文科省NBRPの中核機関として、藻類リソースの集約、高品質化、バックアップ体制の整備、広報・啓蒙活動等を行ってきた。MCC-NIESの約80%の保存株は国内産で、18門、46綱に及ぶ多様な分類群を網羅する一方で、モデル生物系統や環境研究に資する株、シャジクモ等の絶滅危惧種の保存株といった特色ある保存株を保有する。

2012年度の保存株提供数は、347件878株で、環境研究、バイオ燃料や生理活性物質の探索等の応用研究、光合成や進化・多様性研究等の基礎研究、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作業も進めており、今年度は凍結時の生存率が低いハプト藻と珪藻保存株、絶滅危惧I類のシマチスジノリの凍結保存に取り組み、33種72株を凍結保存に移行(合計1,018株)した。この他に①フローサイトメトリーを活用した保存株の単藻化や②付着生物が混在するシャジクモ保存株の単藻化等のリソースの高品質化、③保存株リスト第9版の出版、④クラミドモナス属53種79株の遺伝子情報の取得と解析に基づく種名改訂等の分類学的整理、⑤国内外の関連学会(8大会)における事業と活動紹介といった活動を行った。次年度以降の課題としては、①多様なリソースの整理(研究目的や特性、有用物質、形態的特徴等のカテゴリー分け)と各種付加情報の重点的な収集、②頭打ち傾向にある提供件数の拡大、③凍結保存への更なる移行、④省エネ、震災対策等が挙がってきている。

P-19 NBRC 平成24年度事業報告（微生物株）

○崎山弥生, 鎌田 幸, 府川仁恵, 中川恭好, 与儀重雄, 鈴木健一郎, 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では、微生物を中心とした生物遺伝資源を収集、保存、提供するとともにその利用基盤を整備し、微生物資源の研究、教育、産業への利用促進をはかっている。BSL2以下のアーキア・放線菌を含む細菌、酵母、糸状菌、微細藻類、ファージ、DNAリソースなどが対象となっている。平成24年度に実施した事業と微生物株の実績について報告する。

1. 新規登録株は553株で、総計28,417株*あり、そのうち公開株は18,201株*であった。
2. 国内分譲6,367株、海外379株、合計6,746株*であった。
東日本大震災で被災した分譲先に対しては、災害で滅失した生物遺伝資源の無償分譲を期間延長して行った。
3. NBRC開設10周年記念国際シンポジウム「バイオリソースセンターの遺伝資源管理に対する名古屋議定書の影響」において、海外の保存機関とその対応についての情報共有を図った。また、タイBIOTECと包括的覚書を更新し、TAM（Transfer Agreement of Microbes）を用いたタイ原産株の移転スキームを新たに確立した。
4. メールマガジンによる微生物の保存・培養方法の紹介を定期的に配信するとともに、微生物実験講習会ではアンプル開封法などの基本技術の講義と実習にて、NBRC株利用者に適切な微生物の選択と取扱の支援につとめた。また、子ども向けには千葉県夢チャレンジ体験スクールとして微生物実習をおこなった。

*平成25年1月末現在の数字を掲載した。

P-20 NBRC・10年間のユーザーニーズの解析について

○府川仁恵, 神野浩二, 山田隆一, 与儀重雄, 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、2002年から微生物を中心とした生物遺伝資源の利用環境の整備を推進し提供を行ってきた。今後の微生物の利用促進のため、NBRCの微生物収集戦略や情報提供に役立てるため、2002年から10年間の微生物ごとの分譲先の業種、使用目的についてユーザーニーズの動向を解析した。

1. 10年間のNBRC株の分譲：21,719件、68,993株
最近では平均8,000株程度で推移している。
2. 分譲先約2,900機関は、公的機関：民間企業＝3：7であった。
3. 民間への分譲のうち、食品業界、医薬品業界への分譲が総分譲株数の約半数を占めた。
4. NBRC株の使用目的では公的機関と食品業界は「研究開発」、医薬品業界では「殺菌・抗菌・抗カビ等の公定法試験」が多かった。また、全体では「研究開発」「殺菌・抗菌・抗カビ等の公定法試験」「局方試験・品質管理」の順であった。
5. 分譲数の多いNBRC株トップ10は検定菌であった。
Escherichia coli NBRC 3972, *Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275, etc.
6. 業種別利用菌一覧からそれぞれの特徴が読み取れた。
医薬品業界にはサルモネラ菌や大腸菌など医薬の性能検査に用いる微生物、食品業界は乳酸菌、酢酸菌など生産に用いる微生物、化粧品業界、繊維や機械業界、検査機関については公定法に指定された微生物の分譲が多かった。

今後も、分譲依頼書やヒアリングを行ってユーザーニーズの把握に努め、微生物資源の充実やユーザーへの利便性の向上をはかっていく。

P-21 玉川大学学術研究所菌学応用研究センターのカルチャーコレクションについて

○石崎孝之, 奥田 徹

玉川大学学術研究所菌学応用研究センター

玉川大学学術研究所では、1999年に菌学応用研究センターが設立されて以来、主として日本産試料から菌株を分離し、多様性の高い菌類ライブラリーの構築を継続的に行ってきた。2012年末における菌株保有数は、704属1,008種15,410株であり、このうちいわゆる糸状菌は425属539種12,104株、またいわゆるきのこは279属469種3,306株であった。特にきのこについては、全ての菌株において対応する凍結乾燥標本を保管している。これまでに、当大学内の研究室や外部の共同研究機関に対して菌株の供与を積極的に行い、新種10種・日本新産種12種や、種々の新規生理活性物質を見出してきた。

これらの菌株利用を促進するため、当センターは2012年に日本微生物資源学会の機関会員としての承認を受け、公的な菌株保存機関としての活動を開始した。現在は、菌株の分譲体制を整備し、またライブラリーの一部についてTAMAコレクションとして公開する準備を進めている段階にある。本発表では、この活動の一環として、食品・環境・エネルギー分野への応用が期待されているきのこに着目し、保有菌株の詳細な解析を行ったので報告する。

まず、オンラインデータベース Catalogue of Life 記載のデータをもとに、当センターに保管されているきのこ菌株3,306株の内訳を詳細に再解析したところ、21目76科279属から構成されていることが分かった。このうち、担子菌は218属、子囊菌は61属であり、最も保有菌株の多い属は、担子菌ではクヌギタケ (*Mycena*) 属151株、子囊菌ではハイイロクズチャワンタケ (*Mollisia*) 属47株であった。これらの属の菌株数の、保有きのこ菌株数全体に占める割合は、それぞれ4.6%、1.4%と比較的少ないことから、当センターのきのこ菌株ライブラリーは多様性に富んでいるものと考えられた。さらに、これらのうち、優秀な食用菌や抗菌活性を有する菌など、産業上有用な種が含まれているにも関わらず、当センター保有菌株の中では種レベルの詳細な解析が比較的進んでいない、担子菌モエギタケ科スギタケ (*Pholiota*) 属に着目して、菌株の生理学的、形態学的、分子系統学的な解析を行い、基礎情報を収集した。この結果を踏まえ菌株を選抜し、TAMAコレクションへの追加を行った。

P-22 千葉大学真菌医学研究センターで収集した病原真菌・放線菌の動向 (2007-2012年)

○矢口貴志, 伊藤純子, 田中玲子, 亀井克彦

千葉大学真菌医学研究センター

千葉大学真菌医学研究センターは、国内随一の病原真菌保存機関であり、現在の保存株数は真菌約17,900株、放線菌2,100株に達している。これら菌株は研究のための収集や同定依頼によって集められている。免疫力の低下した患者にとって真菌や放線菌による感染症は深刻な問題で、その数は増加傾向にある。当センターでは、医療機関などからの依頼で、臨床由来の菌株において寄託を条件に、形態や生化学的性状、遺伝子解析に基づく同定を行い保存している。新鮮な臨床分離株は真菌症の動向調査、新薬の薬効試験などにおいて重要である。2007年～2012年に収集・保存した臨床由来の病原真菌・放線菌の動向についてまとめてみた。

真菌は主に内科領域(血液、気管支洗浄液、喀痰など)、皮膚科、耳鼻科、眼科等から分離された。部位別に見た菌分離頻度は、内科領域では *Aspergillus* 属が最も多く、続いて *Candida* 属、*Scizophullum commune*、*Scedosporium* 属などであった。 *Aspergillus* 属では *A. fumigatus* が最も多く、その関連種である *A. udagawae* や *A. viridinutans* の分離もここ数年で見られた。皮膚科では *Exophiala* 属や *Trichophyton* 属、眼科では角膜真菌症の原因となる *Fusarium* 属、*Beauveria* 属が分離された。

放線菌は内科領域、皮膚科、脳中枢神経系等で、部位別の分離頻度は、内科領域では *Nocardia farcinica* が最も多く、皮膚科では外傷などで感染し易い *N. brasiliensis*、脳中枢神経系では脳膿瘍などから *N. farcinica* が分離されていた。

今回のまとめで病原真菌・放線菌の過去5年間の同定菌種に大きな変動は見られなかったが、分離部位と分離菌種との間には相関が見られた。医療機関からの同定依頼数は年々増加傾向にある。今後も、原因菌の同定や薬剤感受性試験などを通じて医療に貢献するとともに、医療現場との連携を深め、新鮮な臨床分離株の収集・保存に努めていきたいと考える。

P-23 FMRCの2012年度のコレクション活動とTUF C公開株の特色

○牛島秀爾, 早乙女梢, 前川二太郎, 白水 貴, 會見忠則, 中桐 昭
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 (FMRC) は, 2005年の開設以来, 担子菌類のハラタケ類, コウヤクタケ類, 多孔菌類, キクラゲ類および子囊菌類等のきのこ類菌株を収集し, TUF C菌株として保存を進めてきた. 国内外における調査・収集活動の結果, 昨年1年間で170種1,000株以上を収集・保存し, 2013年3月現在の保有菌株数は425属1,148種7,831株となった. 昨年6月には約220属400株をオンラインカタログに公開し, 国内分譲を開始した. その後, 保有菌株の形態ならびに分子情報 (ITS領域の塩基配列の解析) に基づく正確な種同定を進めた結果, 新たに167株を新規公開株として追加し, 2013年3月現在の公開株は170属282種557株となった. また, 菌株の分離源である乾燥標本を管理するデータベースも構築し, 菌株データベースと連携させた.

2013年3月より, FMRCのホームページ (<http://muses.muses.tottori-u.ac.jp/facilities/FMRC/index.htm>) が大幅にリニューアルされた. また, TUF C菌株カタログのバナーを鳥取大学および農学部のトップページに設置したことにより, 分譲サイト等へのアクセスが容易になった. さらに, 菌株の注文は従来よりも簡便な方法に改め, サイトからダウンロードできる分譲依頼書を郵送することで申し込むことができるように改善した.

FMRC公開株の特色としては, 他のカルチャーコレクションではあまり扱われていないコウヤクタケ類を約90株, 多孔菌類を約200株含むことがあげられる. また, FMRCでの研究に基づき新種として分類学的論文に掲載・使用されたタイプ由来株も含まれている. 例えば, コウヤクタケ類の *Asterostroma macrosporum* N. Maek. & Suhara (TUF C 10013) や子囊菌類の *Trichoderma mienum* C.S. Kim, Nakagiri & N. Maek. (TUF C 61533) があげられる. FMRCは, 今後もハラタケ類はもとよりコウヤクタケ類や多孔菌類の多様な菌種を収集・保存し, 公開を進めていくとともに, 難培養性の菌根性きのこ類の収集や保存方法の検討を進め, 多様なきのこ類を保有するTUF Cコレクションを充実させていきたい.

P-24 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2012年度の活動と成果

○一木 (植原) 珠樹, 澤田宏之, 佐藤豊三, 永井利郎, 青木孝之, 竹谷 勝, 山崎福容, 大園麻友, 中島比呂美, 熊谷みどり, 河瀬眞琴
農業生物資源研究所遺伝資源センター

【収集保存・特性評価】 農業や食品産業等に係る1,101株の微生物を新規に登録し, 2013年1月末日現在の保存株数は29,381株 (公開率: 77.6%) となった. また, 保存株の分類学的性状, 病原性, 薬剤耐性, 物質生産性等の延べ2,039点の特性情報を集積するとともに, 分類同定に関するバーコードDNA情報を登録微生物株に網羅的に付加することを目的に, 本年度は, 植物病原菌を中心とした糸状菌についてrDNA ITS領域を1,056点, 細菌について16S rDNA等を2,194点, 計3,250点を解析した. 決定した配列はジーンバンクのデータベースに格納, 順次公開中である. 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* アブラナ科およびウリ科系統の分類検証 (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 sequevar 型別 (農業環境技術研究所), ⑤ *Bipolaris* および *Curvularia* 属菌の分類検証 (畜産草地研究所). これまで登録用紙で行ってきた微生物株の登録作業を効率化するため, オンライン登録システムを新たに開発した.

【ユーザーへの提供】 4~11月の8か月間で, 国内外へ1,229株 (申込195件) を配布し, 分類同定, 農薬開発, 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, 日本植物病名目録第2版 (2012) の出版に伴い日本植物病名データベースと農業生物資源ジーンバンクの微生物遺伝資源データベース間の相互リンク (植物病名から微生物株へのリンク, および微生物株から植物病名へのリンク) を再構成した. また, 保存微生物株の利用促進を図るために, 「微生物遺伝資源利用マニュアル」12号改訂第2版「青枯病菌 *Ralstonia solanacearum*」, 31号「植物ウイルスの特性とその保存について」, 32号「野菜に病原性を示す *Sclerotium* 属菌」の3編を刊行するとともに, 当ジーンバンクのウェブサイトにもそのPDF版を掲載した (<http://www.gene.affrc.go.jp/publications.php>).

P-25 2012年度のJCMの活動報告

○押田祐美, 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, 遠藤力也, 草桶佳代, 鈴 幸二, 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（NBRP）「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、2013年2月末現在21,208株を保有し、うち13,783株を一般に公開している。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、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。

2012年8月から9月にかけて、和光キャンパスから筑波キャンパスへの移転を行った。JCMの移転により、理研BRCの全ての活動が筑波キャンパスに集約されることとなった。移転作業のため、約1ヶ月半の間、寄託受入等の業務を停止したが、10月1日より業務を再開した。筑波キャンパスにてISO9001:2008の特別審査を受け、引き続き認証された。

2012年度は2月末までに655株を収集し、2,600株を提供した。収集の際には、誤った株が保存されないことがないように受入検査を徹底している。2012年度は収集株の約9%に、生育しない、コンタミネーション、異なった菌株が送付される等の不備があった。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2月末までに239株について発行した。

リソースの普及のため、利用者への啓発活動や関連情報の整備等の活動も行っている。2012年度はNBRPゲノム情報等整備プログラムに採択され、JCM株約300株のドラフトゲノム解析を東大新領域オーミクス情報センターと共同で実施した。3月末までに解析を終了する予定である。3月には嫌気性微生物の培養・保存に関する技術研修を行った。その他、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、毎月のメールニュースの発信、学会等における広報活動を行った。