

第18回 助成研究報告会

日 時：2024年6月7日(金)13:00~17:00

場 所：千里ライフサイエンスセンター



公益財団法人 発酵研究所

第 18 回 研究助成報告会

日 時：2024 年 6 月 7 日（金） 13：00～17：00
場 所：千里ライフサイエンスセンター（大阪府豊中市）
5 階 山村雄一記念ライフホール
6 階 千里ルーム・602～604 号室



公益財団法人 発酵研究所

プログラム

開会挨拶 公益財団法人発酵研究所理事長 (13:00 ~ 13:05)

事務局からの連絡 (13:05 ~ 13:10)

2022年度 大型研究助成<口頭発表> (13:10 ~ 14:50)

O-1 日本人腸内細菌種を宿主とするファージの同定と分離

須田 互 (理化学研究所生命医科学研究センター)

座長: 矢口 貴志 (千葉大学准教授)

O-2 アミノ基キャリアタンパク質を介した生合成システムによる化合物構造多様性
創出の分子機構に関する研究

西山 真 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

座長: 吉村 徹 (名古屋大学名誉教授)

O-3 細菌の新たな元素状硫黄呼吸システムの分子機構

三原 久明 (立命館大学生命科学部)

座長: 吉村 徹 (名古屋大学名誉教授)

O-4 腫瘍内複合細菌 AUN を用いるがん診断・治療

都 英次郎 (北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科)

座長: 石井 正治 (東京大学教授)

O-5 北海道のワイン醸造における微生物テロワールの解明

曾根 輝雄 (北海道大学大学院農学研究院)

座長: 石井 正治 (東京大学教授)

2018年度 寄付講座助成<口頭発表> (15:05 ~ 15:35)

O-6 革新的技術による輸送系膜タンパク質機能の解明と「微生物膜輸送工学」への
応用展開

川崎 寿 (東京大学大学院農学生命科学研究科附属アグロバイオテクノロジー
研究センター 微生物膜輸送工学寄付講座)

座長: 清水 昌 (京都大学名誉教授)

2022年度 学会・研究部会助成<口頭発表> (15:35 ~ 15:50)

O-7 日本乳酸菌学会

片倉 啓雄 (日本乳酸菌学会 前会長)

座長：矢口 貴志 (千葉大学准教授)

一般研究助成(2022、21年度)、若手研究者助成(2022年度)、研究室助成(2022年度、中間報告)、寄付講座助成(中間報告)

<ポスター発表> (16:00 ~ 17:00)

- P-1 **制限酵素断片のエンドシーケンシングによる細菌の肺スループット系統解析法の確立**
平井 到 (琉球大学医学部)
- P-2 **多細胞化と性進化のモデル生物群「ボルボックス類」を次世代に伝える**
野崎 久義 (東京大学大学院理学系研究科)
- P-3 **多重微小電極培養装置を用いた未培養電気合成微生物の分離および電気合成生物カルチャーコレクションの拡充**
若井 暁 (海洋研究開発機構超先鋭研究開発部門)
- P-4 **南極産菌類の保存による微生物資源としての基盤形成**
辻 雅晴 (旭川工業高等専門学校物質化学工学科)
- P-5 ***Actinotignum* 属菌種の系統分類における新規解析手法の確立**
富田 純子 (愛知学院大学薬学部)
- P-6 **嫌気性環境に棲息する未知の捕食性原核微生物の探索・分離と多様性解明**
山本 京祐 (産業技術総合研究所生物プロセス研究部門)
- P-7 **醤油酵母の分類に関する研究**
渡部 潤 (福島大学食農学類)
- P-8 **シングルセルソーティングによる新規温泉アーキアの網羅的分離培養およびリソース化**
加藤 真悟 (理化学研究所バイオリソース研究センター)
- P-9 **日本産アミガサタケ類の多様性解明と栽培化実現に向けた系統分類的整理**
吉田 裕史 (岩手生物工学研究センター生物資源研究部)
- P-10 **ヒト腸内有益放線菌の役割—迅速検出法と選択分離法の構築—**
武 晃 (北里大学医学部)
- P-11 **新規乳酸菌の系統分類とバイオリソースの整備**
野田 悟子 (茨城大学大学院理工学研究科)

- P-12 **プラスミド宿主域を用いた微生物分離法の利用域拡大**
木村 善一郎 (呉工業高等専門学校環境都市工学分野)
- P-13 **出芽酵母より見出した新規な糖リン酸化酵素の生理的役割の解明**
梅川 碧里 (三重大学大学院生物資源学研究科)
- P-14 **D- サイクロセリン生合成に関わる金属酵素の活性制御機構**
的場 康幸 (安田女子大学薬学部薬学科)
- P-15 **オミックス解析による酵素の探索とその理解**
松沢 智彦 (香川大学農学部)
- P-16 **極低濃度の抗生物質が示す新作用：細菌の細胞間形質転換を促進する作用**
前田 純夫 (奈良女子大学大学院生活環境科学系)
- P-17 **生体内の GTP 量を感じしエピジェネティックに発現制御される遺伝子の機能解明**
沖 昌也 (福井大学学術研究院工学系部門)
- P-19 **酵母の成長・分裂様式の可塑性の基盤解明**
五島 剛太 (名古屋大学大学院理学研究科)
- P-20 ***Bifidobacterium bifidum* 糖質分解酵素によるムチン糖鎖コア切り分けの分子メカニズムの解明**
加藤 紀彦 (京都大学大学院生命科学研究科)
- P-21 **TORC1 シグナル経路を介した酵母細胞の高温増殖制御**
両角 佑一 (奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科)
- P-22 **バイオエコノミー技術への貢献を志向した植物ホルモン様物質による微細藻類の増殖制御と回収法の開発**
高橋 利幸 (都城工業高等専門学校物質工学科)
- P-23 **腸炎ビブリオ菌が腸管の粘性環境に応答して病原性を発揮する仕組みの解明**
寺島 浩行 (長崎大学熱帯医学研究所, 現 金城学院大学薬学部)
- P-24 **麹菌の製麹時に見られる発熱現象の分子生物学的, 生化学的解析**
外山 博英 (琉球大学農学部亜熱帯生物資源科学科)
- P-25 **ゲノム構造から紐解くヒト常在性日和見レンサ球菌の病原性進化メカニズム**
田端 厚之 (徳島大学大学院社会産業理工学研究部)
- P-26 **エゾマツの天然更新を阻害する雪腐病菌の種構成と冬季の環境条件との関係の解明**
松下 範久 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

- P-27 **異なる木質基質に依存するシロアリ腸内微生物叢の解析**
徳田 岳 (琉球大学熱帯生物圏研究センター)
- P-28 **細菌外膜の機能維持に関与するシャペロン／プロテアーゼの新規機能の解析**
成田 新一郎 (山形県立米沢栄養大学健康栄養学部)
- P-29 **超好熱性アーキアにおける RNA 耐熱化機構の解明**
平田 章 (徳島大学大学院社会産業理工学研究部)
- P-30 **卵菌の温度に応答した形態形成制御に関わる因子の同定と機能解析**
谷 修治 (大阪公立大学大学院農学研究科)
- P-31 **植物病原糸状菌の新規病原性獲得機構に関する遺伝学的研究**
宇佐見 俊行 (千葉大学大学院園芸学研究院)
- P-32 **原始的リボソームの構築と進化の考察**
赤沼 元気 (学習院大学理学部生命科学科, 現 城西大学理学部化学科)
- P-33 **アスガルド古細菌から紐解く細胞形態の制御機構の分子進化**
千住 洋介 (岡山大学異分野基礎科学研究所)
- P-34 **コムラサキシメジにおけるフェアリー化合物と一酸化窒素の生合成機構・生理的役割の解明**
崔 宰熏 (静岡大学農学部, 現 静岡大学グローバル共創科学部)
- P-35 **ビブリオのステロイド誘導性自己凝集体形成機構の解析**
松田 重輝 (大阪大学微生物病研究所)
- P-36 **擬似有性生殖を介した植物共生菌および病原菌の進化機構の解明**
竹本 大吾 (名古屋大学大学院生命農学研究科)
- P-37 **土壌微生物に共通する腐植物質応答制御機構の解明**
笠井 拓哉 (名古屋大学未来材料・システム研究所システム, 現 産業技術総合研究所生物プロセス研究部門)
- P-38 **NADH 酸化能を失った非ミトコンドリア型呼吸鎖複合体 I の生理機能**
井上 真男 (立命館大学立命館グローバル・イノベーション研究機構)
- P-39 **出芽酵母前孢子膜の MCS 再編成を介した伸長の分子機構解明**
舘川 宏之 (東京大学大学院農学生命科学研究科, 現 立教大学スポーツウエルネス学部)
- P-40 **細菌セルロース分泌システムの完全再構成によるバイオフィーム形成機構の解析**
奥田 傑 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

- P-41 **薬剤耐性に寄与するパーシスターの生理および誘導機構の解明**
山口 良弘 (大阪公立大学大学院理学研究科)
- P-42 **植物病原菌 *Lasiodiplodia theobromae* におけるジャスモン酸生合成経路
および生理機能の解明**
佐藤 道大 (静岡県立大学薬学部)
- P-43 **グロムス亜門菌類が異なる形態のアーバスキュラー菌根を形成するメカニズム
とその生理的意義の解明**
上中 弘典 (鳥取大学農学部)
- P-44 **分裂酵母における細胞間コミュニケーションを介した寿命決定機構の解明**
山崎 晴丈 (新潟薬科大学応用生命科学部)
- P-45 **新規立体構造に基づく大腸菌 S2P 膜内切断プロテアーゼの切断制御機構の
解明と薬剤スクリーニング系の開発**
檜作 洋平 (京都大学医生物学研究所)
- P-46 **酵母において空間的制御を受ける発酵経路酵素による解糖系調節機構の解明**
野村 亘 (京都大学大学院農学研究科, 現 信州大学学術研究院 (農学系))
- P-47 **遺伝子の発現抑制最適化による高収率物質生産技術の開発**
山田 亮祐 (大阪公立大学大学院工学研究科)
- P-48 **植物関連放線菌が生産する二次代謝産物の解析およびその作用**
中島 琢自 (早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構)
- P-49 **ビックデータを活用した生物活性天然物の生合成経路の推定と実験的検証**
南 篤志 (北海道大学大学院理学研究院)
- P-50 **酵母由来再構成型生体外タンパク質合成系を利用した非天然アミノ酸導入
システムの確立**
富田 野乃 (東京大学大学院新領域創成科学研究科)
- P-51 **微生物によるリン酸セメントの生産技術開発**
黒田 章夫 (広島大学大学院統合生命科学研究科)
- P-52 **農耕生態系における共生微生物叢の包括的把握と作物強韌化に関わる作用
機序の解明**
肥後 昌男 (日本大学生物資源科学部)
- P-53 **腸内細菌に対するヒトモノクローナル抗体の探索と抗原分子の解析**
中野 秀雄 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

- P-54 **多様化するカンジダ症原因菌の病原因子および抗真菌薬感受性と分子系統分類との関連性**
永塚 由佳 (福山大学薬学部)
- P-55 **リン酸化ネットワークを介したワックスエステル発酵制御機構の解明**
石川 孝博 (島根大学生物資源科学部)
- P-56 **宿主環境に最適化された抗菌治療薬探索法の確立**
浜本 洋 (帝京大学医真菌研究センター, 現 山形大学医学部)
- P-57 **合成生物学的手法による液体燃料の自在合成基盤の確立**
湯澤 賢 (慶應義塾大学先端生命科学研究所)
- P-58 **穿孔貝の共生微生物の生存戦略**
沖野 龍文 (北海道大学大学院地球環境科学研究院)
- P-59 **病原性関連因子を分解代謝する微生物による植物病害防除**
佐藤 育男 (名古屋大学大学院生命農学研究科)
- P-60 **好冷性方線菌のラッカーゼを用いた新規タンパク質架橋酵素の創出**
時下 進一 (東京薬科大学生命科学部)
- P-61 **高効率な嫌氣的ベンゼン分解を実現する最適微生物群の構築**
鈴木 研志 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
- P-62 **細菌スフィンゴ糖脂質の高度利用を目指した研究基盤の構築**
沖野 望 (九州大学大学院農学研究院)
- P-63 **複合微生物系プロセスの基盤制御技術の開発および理論構築**
田代 幸寛 (九州大学大学院農学研究院)
- P-64 **発酵経路に依存しない適応進化機構の解明と C 5 糖からの有用二次代謝物生産への応用**
田中 勉 (神戸大学大学院工学研究科)
- P-66 **大規模ゲノム再編成を用いる休眠型二次代謝産物生産法の開発**
浅井 禎吾 (東北大学大学院薬学研究科)
- P-67 **植物地上部に棲息する非病原性真菌類の分類及び C1 酵母の分布と特性評価**
白石 晃将 (京都大学大学院農学研究科)
- P-68 **データ駆動型ヒト腸内バクテリオファーージ分離培養技術の開発**
木口 悠也 (東京大学大学院新領域創成科学研究科)
- P-69 **分離株とゲノム情報から紐解く Epsilonproteobacteria 綱細菌の分類体系**
長谷川 万純 (国立研究開発法人海洋研究開発機構超先鋭研究開発部門)

- P-70 **ボタntax目の新規昆虫病原性系統 "ハスノミウジムシタケ" の分類学的検討**
山本 航平 (栃木県立博物館自然課)
- P-71 **細胞性粘菌が持つ膜受容体タンパク質の構造解析を突破口として G タンパク質共役型受容体の起源に迫る**
加藤 英明 (東京大学大学院総合文化研究科, 現 東京大学先端科学技術研究センター)
- P-72 **食の質的变化に依存した腸内環境変化が生体に及ぼす影響**
宮本 潤基 (東京農工大学大学院農学研究院)
- P-73 **ガスや液体寒天がラボスケールの液内培養中の微生物に及ぼす影響の網羅的解析**
高橋 将人 (筑波大学生命環境系)
- P-74 **ビフィズス菌における全てのオリゴ糖取込みを制御するグローバル ATPase : 生理的意義の理解に向けて**
阪中 幹祥 (京都大学大学院生命科学研究科)
- P-75 **放線菌が真菌の侵略を防ぐメカニズムの解明**
永久保 利紀 (筑波大学生命環境系)
- P-76 **ゲノム解析とメタボローム解析による腔内優性乳酸桿菌の生息に関わる代謝経路の解明**
神谷 知憲 (大阪公立大学大学院医学研究科)
- P-77 **典型的な DNA 修復因子が示す新規 RNA 結合活性の意義**
白石 都 (大阪大学大学院基礎工学研究科, 現 九州大学大学院薬学研究院)
- P-78 **アーキアにおけるセレンタンパク質合成機構の解明**
青野 陸 (立命館大学生命科学部)
- P-79 **大腸菌の酸耐性発現誘導メカニズムの解明による次世代型感染防除法の構築**
神田 健 (筑波大学医学医療系)
- P-80 **水田細菌叢形成メカニズムの解析 - 土壌理化学性改変による菌叢制御の試み -**
鈴木 一輝 (新潟大学研究推進機構超域学術院, 現 新潟大学自然科学系)
- P-81 **地球全体に分布するロドプシン保有細菌の新たな光エネルギー獲得戦略**
志甫谷 渉 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)

- P-82 **アーキアのゲノム安定性維持に関わる新規タンパク質の機能解明**
尾木野 弘実 (岐阜大学工学部)
- P-研1 **若手研究室間協力による非モデル微細藻類の分子生物学的解析が紐解く葉緑体誕生・進化の軌跡**
平川 泰久 (筑波大学生命環境系生物学域平川研究室)
- P-研2 **地方の特性を活かした微生物発酵によるバイオマスの循環型完全利用システムと教育・研究基盤の確立**
河井 重幸 (石川県立大学生物資源工学研究所環境生物工学研究室)
- P-研3 **日本酒学を推進する醸造微生物の動態・関連因子に関する基盤的研究・教育**
平田 大 (新潟大学農学部醸造健康学研究室)
- P-研4 **持続可能な農林業を目指した微生物分子コミュニケーション教育研究拠点の形成**
諸星 知広 (宇都宮大学工学部基盤工学科生物工学研究室)
- P-研5 **東北日本海側地域の油田・ガス田における地下微生物生態系の解明とその環境・資源技術への展開**
宮田 直幸 (秋田県立大学生物資源科学部生物環境科学科生態工学研究室)
- P-研6 **臨海3研究室と国際連携による共創的微生物研究者の育成とサーキュラー・マリンバイオエコノミー基盤の構築**
原 清敬 (静岡県立大学大学院食品栄養環境科学研究院環境工学研究室)
- P 寄-1 **多様な糸状菌類の固体気質認識ならびに侵襲メカニズム解明を基盤とする糸状菌・環境インターフェイス工学の創生とその研究教育拠点の形成**
河内 護之 (京都大学大学院農学研究科糸状菌・環境インターフェイス工学講座)
- P 寄-2 **全ゲノム塩基配列に基づく酵母の高次分類体系の再構築および発酵・醸造に重要な酵母のタイピングに応用できる高解像度の実用的同定識別システムの確立と応用**
高島 昌子 (東京農業大学総合研究所酵母多様性生物学・分類学研究室)
- P 寄-3 **麹菌の家畜化に伴う遺伝的多様性の解析とその活用による高機能麹菌の育種基盤確立**
楠本 憲一 (大阪大学大学院工学研究科麹菌育種工学寄附講座)



要旨 (大型研究助成)

日本人腸内細菌種を宿主とするファージの同定と分離

須田 互 (理化学研究所生命医科学研究センター)

[背景・目的]

腸内微生物叢は宿主の生理状態に大きな影響を及ぼすため、その制御技術の開発は喫緊の課題である。いわゆる有用菌の開発が順調である一方、疾患を惹起する細菌群を選択的に除去する手法については未だ開発が進んでおらず、広域スペクトルを持つ抗菌剤とは異なる、疾患惹起細菌群に選択的に感染するファージを投与するファージセラピーが囑望されている。実用的なファージセラピーのためには様々なスペクトルのファージの収集が必要であるが、ファージゲノムのデータベースは未だ不十分であり、特に我が国では基盤技術が乏しいため、日本で発見された疾患関連細菌群のファージ制御についても海外で検討が行われている現状がある。また腸内細菌叢構造は国ごとに大きく特徴が異なるため、日本人の疾患克服には日本独自の腸内微生物研究が求められる。本研究では日本人腸内ファージ叢のメタゲノム解析によって完全長ゲノムを構築し、目的ファージを単離する技術を確認することを目的とした。

[方法]

89名の被験者から糞便を採取し、DNAを抽出したのち短鎖型・長鎖型シーケンサーを用いたショットガンメタゲノムシーケンシングを行った。得られたリードを用いてアセンブリ後、クオリティチェックを行い、高品質コンティグを得た。高品質コンティグに対して各種ツールを用いて分類を行い、完全長または完全長に近いファージゲノムを得た。得られたファージゲノムについて遺伝子機能解析・宿主推定等を行い、日本人由来ファージデータベースとして整備した。

[結果・考察]

取得メタゲノムデータのアセンブリとその後の情報解析によって、約5,000以上の完全長に近いファージゲノムを得た。得られたファージゲノムについて既存のデータベースへ相同性検索を行うと、半数以上が未報告の新規なゲノム配列をもつファージであった。構築したゲノム情報に基づき生活様式の推定を行うと、溶原ファージと判定されるものが約45%であり、溶菌性ファージ約40%と比べて高い割合であった。CRISPR spacers領域を用いたファージの宿主推定の結果、約半数のファージについて宿主を推定することが可能だった。これらのファージをリファレンスとして疾患患者の腸内ファージ叢の解析を行なった結果、疾患によって有意に減少するファージおよびファージ由来の機能を発見した。また、微生物制御に対するアプローチとして、一部の病原性腸内細菌種をマイトマイシン処理し、活性化するアクティブなプロファージも発見している。現在は、これらのファージを利用した病原細菌の制御についても検討を進めている。

アミノ基キャリアタンパク質を介した生合成システムによる化合物構造多様性創出の分子機構に関する研究

西山 真 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

[背景・目的]

好熱菌においてはリジンやアルギニンが新規キャリアタンパク質タンパク質 (AmCP) を用いて生合成される。この生合成システムは、放線菌を初めとする多くの細菌において非タンパク質性アミノ酸の生合成に転用されていることが明らかになってきた。本研究では、AmCP を介して生合成される多様な非タンパク質性アミノ酸を利用して生合成される新たな天然化合物を探索し、生合成経路や機構を解析することで、天然化合物の構造多様性創出原理の一端を解明することを目的とした。

[方 法]

AmCP を対象としたゲノムマイニングを行い、幾つかの AmCP をコードする遺伝子を含む遺伝子クラスター群を見だし、それらによって生合成される天然化合物を単離精製、構造決定すると共に、それらの遺伝子の破壊株で蓄積される化合物の構造決定、並びに遺伝子産物の酵素機能の解析などを行った。

[結果・考察]

放線菌の AmCP システムで作られる非タンパク質性アミノ酸 2,6-diamino-5,7-dihydroxyheptanoic acid は、二環性のアミノ酸へと変換されることが明らかになっている。この二環構造のうちの 3 員環部分である aziridine 環は azinomycin B や ficellomycin が示す抗腫瘍、あるいは抗菌活性の本体であるが、この構造がどのように形成されるか明らかになっていなかった。本研究により、2つの機能未知タンパク質がその形成に関わることを突き止め、結晶構造解析により、アジリジン環の形成機構を解明することに成功した。また、他種放線菌において、抗菌物質 Maleimycin が AmCP を介して生合成されることを見出し、生合成経路を解明することにも成功した。その生合成には AmCP 上で生成した Glu-semialdehyde にオキサロ酢酸を脱炭酸的に縮合して C3 単位伸長する新規酵素や単一分子間でラクタムを形成する新規酵素、生合成の最終反応である酸化を伴い脱炭酸する新規酵素などが関わっていた。AmCP システムでは複数の官能基を持つ親水性アミノ酸が作られ、それが構造多様性創出の構造要因となっていることが明らかになりつつある。本発表では、上記を含めて AmCP を介して生合成される幾つかの天然化合物について、ユニークな生合成機構を紹介する。

細菌の新たな元素状硫黄呼吸システムの分子機構

三原 久明 (立命館大学生命科学部)

[背景・目的]

硫黄還元細菌は元素状硫黄 (S^0) を用いた嫌気呼吸 (硫黄呼吸) を行い、生物地球化学的な硫黄循環に関与する。硫黄は化学形態が多彩でカテナーションおよび不均化するという特性があり、細菌によるその代謝機構には謎が多い。本研究では、硫黄還元細菌 *Geobacter sulfurreducens* PCA における硫黄の取込みから還元、電子伝達まで、硫黄呼吸システムの全体像を分子レベルで解明し、細菌による硫黄循環機構の理解に貢献することを目的とした。

[方 法]

G. sulfurreducens PCA に、1 サブユニット当たり 5 つの *c* 型ヘムと 1 つのセレノシステイン残基を有する新奇ポリスルフィド還元酵素を発見した。ゲノム情報解析により、本酵素遺伝子 (*esuD*) の周辺には、推定硫黄還元遺伝子群 (*esuABCDEFGHJIJ*) が見いだされた。それらについて、生化学的、構造生物学的、遺伝学的、生命情報学的解析を行い、硫黄還元機構の解明を試みた。

[結果・考察]

ポリスルフィド還元酵素 (*EsuD*) の X 線結晶構造解析および部位特異的変異導入実験により、本酵素の活性中心は、Sec325 およびヘム 4 の鉄原子に軸配位する Cys239 から構成されることが考えられた。推定基質チャネルを通して活性中心に結合するポリスルフィドは、Sec325 と Cys239 による触媒作用ならびに複数のヘムを介した電子伝達により供給される電子により還元されることが考えられた。また、*EsuD* はペリプラズムに局在し、培地への S^0 添加により発現誘導されることがわかった。 $\Delta esuA$, $\Delta esuB$, $\Delta esuC$, $\Delta esuD$, $\Delta esuEFGHJIJ$ の各遺伝子破壊株は、いずれも S^0 還元能を顕著に低下させた。生化学的解析により、*esuA* の産物はポリスルフィドに対して高い触媒効率を示す新奇の膜局在性硫黄転移酵素であることが明らかとなった。*esuB* 産物は外膜ポーリンであり、*EsuA* と外膜上で複合体を形成したことから、硫黄のペリプラズムへの輸送に関わると考えられた。*esuC* 産物はペリプラズム局在硫黄キャリアであり、*esuEFGHJIJ* は *EsuD* への電子供給に関わる可能性が考えられた。これらの結果から、*esuRABCDEFGHJIJ* は新奇な硫黄呼吸システムを形成すると考えられた。

腫瘍内複合細菌 AUN を用いるがん診断・治療

都 英次郎（北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科）

[背景・目的]

近年、低酸素状態の腫瘍内部で選択的に集積・生育・増殖が可能な嫌気性微生物（細菌）を利用した癌標的治療に注目が集まっている。従来の癌細菌療法は、既に米国や欧州ではヒトへの臨床試験が行われ、第3相試験に進んでいる例もある。しかし、従来の癌細菌療法は、基本的には抗癌剤の運搬という、いわゆる従来型のドラッグデリバリーシステムの概念を出ない。また、使用される細菌は、多くの場合、遺伝子組換えによって弱毒化したサルモネラ菌やリステリア菌であり、体内で再び強毒化するリスクを常に伴っている。本研究では、天然の腫瘍内複合細菌 AUN が有する特異な抗癌活性・蛍光放射性と集積・増殖性を利用したマウス体内における有効性を検討することを目的とする。

[方 法]

サルコーマ（Meth-A）、大腸癌（colon-26）、薬物耐性乳腺癌細胞（EMT6/AR1）を背面移植した担癌モデルマウスならびにメラノーマ細胞（B16F10）をマウスの尾静脈に投与することで作製した転移性肺癌モデルマウス体内における細菌〔研究代表者が腫瘍内から発見した細菌；A-gyo（阿形）、UN-gyo（吽形）、AUN（阿吽）と命名〕の性能評価・機能制御を検証した。

[結果・考察]

マウス尾静脈に細菌投与後（単回、ボーラス）、特にAUNを用いた場合、再現性良く腫瘍が完治することが判明した。また、当該細菌（AUN）は、近赤外光照射により薬物耐性乳癌モデルマウス体内で腫瘍特異的に発光することが分かった。さらに、マウスを用いた生体適合性試験（血液学的検査、組織学的検査、細菌コロニーアッセイなど）を行った結果、いずれの検査からもAUNそのものが生体に与える影響は極めて少ないことが分かった。

本研究成果は、今回発見した細菌を用いたがんの診断・治療法の基礎に成り得るだけでなく、細菌学や腫瘍微生物学などの研究領域への新しい概念の創出として貢献することを期待させるものである。

北海道のワイン醸造における微生物テロワールの解明

曾根 輝雄（北海道大学大学院農学研究院）

[背景・目的]

北海道のワイナリー数は現在 64 を数え、この 10 年間で 3 倍に増加している。北海道はワインの GI（地理的表示）制度に認定されており、味や香りにも地域の独自性を発揮することが求められている。「微生物テロワール」とはワインの味や香りに影響を与える地理的特徴「テロワール」の要素としての微生物を指す言葉である。ワインは通常原料の殺菌を行わない例外的な発酵食品であり、ブドウ園土壌、ブドウ植物、果実、醸造所に生息する微生物などが微生物テロワールを構成すると考えられるが、それらが醸造、ひいてはワインの品質にどのような影響を与えているかについてはほとんど解明されていない。そこで本研究では、北海道の微生物テロワールが、ワインの品質に与える影響を解明する事を目的とする。

[方 法]

まず、道内 4 箇所ワイナリーにおいて、土壌、ブドウ植物、果実、醸造もろみの一貫したサンプリングを行い、各種パラメータと抽出 DNA の次世代シーケンサーによる菌叢解析、酵母・細菌の分離を行った。また、上記分離株とこれまでに北海道の材料から分離した菌株と合わせて *Saccharomyces* 酵母 504 株についてはアルコール発酵特性、キラー性、SSR プロファイルを、*Oenococcus oeni* 乳酸菌 39 株については MLST 解析や一部菌株のゲノム配列などの遺伝的特性、ストレス耐性について解析した。

[結果・考察]

道内 4 箇所ワイナリーからサンプリングした土壌、ブドウ植物、果実、醸造もろみの菌叢解析の結果、各ワイナリーの土壌、また同一ワイナリーでもブドウ生育の異なる箇所では菌叢が異なること、ブドウ植物、果実については菌叢の変動の要因に地域とブドウ品種の両方が関わること、醸造もろみでは初期の菌叢はワイナリーごとに異なるが、発酵が進むにつれて *S. cerevisiae* が優占化することがわかった。土壌、植物、醸造もろみに共通する細菌菌種はいずれのワイナリーでも 10 種以下であり、ブドウ園土壌が醸造で働く微生物の供給源である可能性は低いと考えられた。*Saccharomyces* 酵母は遺伝的に、またアルコール発酵能が非常に多様であること、*O. oeni* 北海道分離株は新たな系統学的クラスターを形成すること、低温や低 pH 条件に耐性を持つ株が含まれることがわかった。



要旨 (寄付講座助成)

革新的技術による輸送系膜タンパク質機能の解明と「微生物膜輸送工学」への応用展開

川崎 寿（東京大学大学院農学生命科学研究科附属アグロバイオテクノロジー研究センター 微生物膜輸送工学寄付講座）

[背景・目的]

発酵生産における細胞内で合成された目的化合物の排出，恒常性維持，エネルギー生産など重要な役割を担う膜輸送タンパク質は，周囲の脂質分子や膜電位などの影響を受けつつ構造変化を伴いながら機能している。しかし，脂質分子との相互作用や動的挙動に基づく作動機構や制御機構の理解は充分ではなく，このことは応用の大きな障壁となっている。本研究は，新しい解析技術を活用して膜輸送タンパク質の作動機構や制御機構の理解を深め，応用に繋がる知見を得ることを目的としている。

[結果・考察]

1. メカノセンシティブ チャネル (Msc) を活用した微生物膜輸送工学

L-グルタミン酸（以下 Glu）の直接発酵生産に用いられている *Corynebacterium glutamicum* において，細胞内で合成された Glu の細胞外への排出を担う膜輸送タンパク質は，膜張力に応答して開閉する Msc である。Msc は孔径が小さい S 型 (*E. coli* 由来は直径 18Å) と孔径が大きい L 型 (*E. coli* 由来は直径 30Å) に大別される。*C. glutamicum* において Glu を排出する Msc は S 型 (MscCG (NCgl1221)) である。パッチクランプ法をベースに独自に開発した微生物膜輸送タンパク質活性解析システムを用いて MscCG の基質特異性を調べたところ，MscCG は，Glu に加えて，L-アスパラギン酸や L-リシンなども ATP やプロトン駆動力などのエネルギーを必要とせずに輸送することが明らかとなった。そこで，MscCG を，リシン生合成を強化した *E. coli* で発現させたところ，リシン生産速度が対照株の約 2.1 倍になった。一方，うま味核酸 (5'-IMP, 以下 IMP) 生合成を強化した *E. coli* で MscCG を発現させても，生産速度は対照株と有意差が無かった。そこで，S 型 Msc より孔径が大きい L 型 Msc (*E. coli* 由来) を IMP 生合成を強化した *E. coli* で発現させたところ，IMP 生産速度は対照株の約 2.3 倍となった。これらの結果は，Msc を活用することで多様な有用物質の生産性を向上させられることを示唆している。

2. うま味核酸 (5'-IMP) を直接発酵生産する微生物の 5'-IMP 排出を担う膜輸送タンパク質

5'-IMP（以下 IMP）の工業生産に用いられている *Corynebacterium stationis*（旧 *Corynebacterium ammoniagenes*）の IMP 排出膜輸送タンパク質遺伝子を同定した。推定アミノ酸配列から，当該タンパク質は major facilitator superfamily (MFS) に属する H⁺

と薬剤を対向輸送する多剤排出膜輸送タンパク質と考えられた。さらに、IMP 生産微生物の当該遺伝子に、その活性を向上させるアミノ酸置換変異 (G64E) を見出した。AlphaFold2 で予測した構造において、当該アミノ酸残基は基質結合 cavity に面していないことから、活性向上化機構に興味を持たれた。全原子分子動力学シミュレーションの結果、当該アミノ酸置換によって、置換残基を含む N 末側 -bundle を構成する膜貫通ヘリックス間の相互作用が強化されることが示された。膜輸送タンパク質は輸送の過程で構造を大きく変えるが、MFS 型膜輸送タンパク質の N 末側 -, C 末側 -bundle は輸送前後で構造を保つと考えられている。前記置換による N 末側 -bundle の構造安定化が、輸送過程での全体構造変化の効率化を通じて排出活性向上に寄与すると考察している。これは、膜輸送タンパク質を高機能化する普遍的アプローチの一つになり得ると考えている。

3. 排出膜輸送タンパク質の探索による有用物質の発酵生産

産業上重要な化合物 X は現在菌体からの抽出法で調製されている。化合物 X の生合成を強化した *E. coli* を作製したが、化合物 X は培養液中にほとんど生産されず、生産量も低いレベルに留まった。そこで、化合物 X を排出する膜輸送タンパク質を探索した。ある膜輸送タンパク質遺伝子を化合物 X の生合成を強化した *E. coli* で発現させたところ、生産速度が向上し、化合物 X の実質的な発酵生産に初めて成功した。また、当該排出膜輸送タンパク質の活性向上、中間体生合成酵素のさらなる強化によって化合物 X の生産性を大きく向上させることに成功した (生合成強化のみの株の約 40 倍)。この結果は、発酵生産における排出膜輸送タンパク質の重要性を示すものと考えている。

4. チラコイド膜に存在する光合成に関わる膜輸送タンパク質

これまで未確立であった葉緑体チラコイド膜タンパク質の配向を決定する実験手法を確立し、チラコイド膜に局在して光合成活性の制御に係ることが知られている陰イオン膜輸送チャンネル、VCCN1 のシロイヌナズナのチラコイド膜での配向を決定した。

光合成の過程において K^+ がチラコイド膜を越えて移動すること、光合成活性の制御において K^+ がチラコイド外から内腔に輸送されることは知られていた。しかし、上記の事項から K^+ の恒常性維持のために必須と考えられる K^+ をチラコイド内腔から排出する膜輸送タンパク質は知られていなかった。シアノバクテリアの *Stc1* が、チラコイド膜に局在すること、 K^+ を両方向に輸送すること、光化学系 II より後ろの電子伝達に非常に重要であることを明らかにした。この結果は、 K^+ は、光合成において、従来考えられていた光合成活性の制御に重要であるだけでなく、より本質的で極めて重要な役割を担うことを示すと考えている。

要旨 (学会・研究部会助成)

日本乳酸菌学会

片倉 啓雄（日本乳酸菌学会前会長）

[活動内容および成果]

本学会では、学会内部組織として委員8名からなる「乳酸菌・腸内細菌分類・培養専門委員会」を設立し、助成金を活用した以下の事業を遂行した。

1. 分類・培養研究分野に関するセミナーの共催，講師の招聘

本学会では年間2回の特別セミナー（秋期セミナー，泊まり込みセミナー）を実施しており、「秋期セミナー」は乳酸菌研究分野における学会員にとって重要な最新知見をシンポジウム形式で紹介し知識・技術の啓蒙・向上を図るイベントであり、「泊まり込みセミナー」は主に若手研究者の研究意欲を向上させ育成につなげることを主眼とした宿泊セミナーイベントである。本助成を共催金として活用し、乳酸菌・腸内細菌の分類・培養に関する最新のトレンド及び乳酸菌分類の変遷現状などについてわかりやすく解説する特別講師を招くことができ、学会員に十分に刺激を与えるイベント開催につながった（秋期セミナー:2件55万円、泊まり込みセミナー:2件113万円の開催助成を実施）。

2. 若手学会員による分類・培養関連研究に対する研究費の助成

当該分野の若手研究者からの申請に対し、一人あたり40～60万円の研究費を助成した。2年間で260万円（5件）の分類・培養関連研究の優れた研究に対して助成を行い、学会内での分類・培養分野の研究促進につながった。

3. 若手学生の学会イベント参加旅費の補助

乳酸菌学会および関連学会において、若手学生を中心に費用面で参加有無が左右される現状を考慮し、応募を募って学会参加旅費（関連研究発表を行う際）の支給を行い（計6名）、学術研究会議への若手参加の機会向上に努めた。

4. 乳酸菌・腸内細菌分類・培養専門委員会 優秀発表賞の授与

乳酸菌学会本大会において、当該分野で優れた発表をした若手研究者に対し、乳酸菌・腸内細菌分類・培養専門委員会委員による厳正な審査のうえ、優秀発表賞を授与した。特に当該分野に関連してエントリーされた研究発表から、本大会における通常の若手発表賞と別個に設けて実施した（1大会あたり1名の授与）。

以上の事業の遂行により、2年間の助成期間内において乳酸菌・腸内細菌分類・培養研究に対する学会員の意識を発揚し、その重要性を再認識し発展させるべき研究として捉えなおす機会が、会員に対し十分に与えられたと考えている。

要旨 (一般研究助成)

制限酵素断片のエンドシーケンシングによる細菌の肺スループット系統解析法の確立

平井 到 (琉球大学医学部)

細菌株の遺伝学的関連性は、いくつかの方法で行われてきたが、どの方法も一長一短あり、多くの菌株を用いた遺伝学的関連性評価は容易ではない。本研究では、細菌の新規系統解析法の確立とその検証を目的とした。被検大腸菌株から抽出した全 DNA の制限酵素 XbaI と HaeIII に挟まれる配列 (以下、エンドシーケンスとする) を Adaptor-ligation mediated-PCR 法により増幅した後に、ナノポアシーケンサーで解析した。大腸菌のエンドシーケンスを含むデータベース (8,442 シーケンスを含む) を作成し、被検菌から実験によって得たシーケンスデータにどのようなエンドシーケンスが含まれるか検索した。検索されたエンドシーケンスを大腸菌のリファレンスゲノムデータベース (3,186 シーケンスを含む) を用いた BLAST 検索によって、最も相同性の高い大腸菌ゲノムを同定した。本手法で同定した大腸菌ゲノムは、全ゲノム解析によって同定した大腸菌ゲノムと同じであり、本研究によって確立した解析法が、細菌の正しい遺伝系統の同定に用いることが出来ることが示唆された。

多細胞化と性進化のモデル生物群「ボルボックス類」を次世代に伝える

野崎 久義 (東京大学大学院理学系研究科)

「多細胞化と性進化」研究のモデル系統群である「ボルボックス類」の凍結保存株化は世界的に見てもほとんど実施されていなかった。従って、次世代の研究者に本生物群を伝える目的で凍結保存株の確立を目指す研究を開始した。

本研究では生活環に着目した材料の選定、プログラムフリーザーによる 2 段階凍結法を実施し、Nakazawa & Nishii (2012, CryoLetters) の凍結保護剤を使用した。その結果、ゴニウムの栄養細胞と接合子を用いた凍結保存条件の確立 (Nozaki et al. 2022, BMC Microbiol.), アストレフオメネの 2 種の凍結保存条件の確立に成功した (Nozaki et al. 2023, BMC Microbiol.). 更に、球状の多細胞体の 6 属 (パンドリナ, ボルブリナ, ヤマギシエラ, コルマノスファエラ, プラティドリナ, ユードリナ) および 4 細胞性のシアワセモとバシクラミスの合計 8 属で各属の至適凍結条件を明らかにし、それぞれの属で 0.1% 以上の the most probable number 生存率を得た (Mori et al. 2023, Microb. Resour. Syst.). 以上の成果に基づいて、国立環境研究所微生物系統保存施設保有のボルボックス類 10 属 156 株において 111 株 (71%) を永久凍結保存株に移行することができた。

多重微小電極培養装置を用いた未培養電気合成微生物の分離および電気合成生物カルチャーコレクションの拡充

若井 暁（海洋研究開発機構超先鋭研究開発部門）

近年、電気化学活性を有する微生物の生態や機能に注目が集まっている。一方で、電気をエネルギー源とした培養方法については電気培養槽が使用されるが、液体培地と幅広い電極界面が反応場となるためコロニー形成をさせることが難しく、純粋分離が難しい状況であった。本研究では、多重微小電極培養装置を独自に開発し、電気を唯一のエネルギー源とする電気合成微生物の分離培養を目指した。10 × 10 cm の固形培地に40本の微小電極を配置して培養を実施した結果、目視可能なコロニー形成の確認には至らなかったが、回収した微小電極の蛍光顕微鏡により、その表面に微生物細胞の確認ができた。これとは別に、水深約700 mの深海環境から採取した岩石試料の微生物群集構造解析を実施し、電気化学活性細菌の存在を確認し、同様に培養試験を実施した。しかしながら、多重微小電極での分離培養には至らず、近縁種の培養特性から推察される化学合成能からチオ硫酸での培養を実施し、複数の微生物コロニーの取得に成功した。この内、二株の純粋分離活についてゲノム解析を実施し、4.8 および 4.75 Mbp のドラフトゲノムを決定した。現在、これらの分離株の培養特性を検討中である。

南極産菌類の保存による微生物資源としての基盤形成

辻 雅晴（旭川工業高等専門学校物質化学工学科）

南極産菌類は氷点下でも成長が可能という低温での類まれな特徴を持っており、近年、微生物資源として注目を集め始めている。しかし、南極大陸に生息する陸上生物のほとんどは沿岸部に生息している。このままのペースで温暖化が続くと南極に生息している菌類の多くは生息域の縮小や絶滅する恐れがある。昭和基地周辺から分離された菌類は、現在まで計77種の菌類が報告されているが、日本の微生物保存機関には、わずかしか保存されていない。

そこで本研究では、日本ではほとんど保存されていない貴重な南極産菌類の収集と保存を行い、微生物資源としての基盤形成を図ることを目的とした。

まずは、南極・昭和基地周辺の試料から菌類の分離を試みた。その結果、約900株の菌株を分離することに成功した。次に分離した南極産菌類について、菌類の種同定を試みたところ、子のう菌類18種、担子菌類25種の計43種に分類することができた。これらの種同定した南極産菌類の菌株は、国立極地研究所にグリセロールストックとして保存している。将来的には、さらなる南極産菌類の収集と保存を行い、南極産菌類を一般に広く利用できる取り組みを進めて行きたい。

Actinotignum 属菌種の系統分類における新規解析手法の確立

富田 純子 (愛知学院大学薬学部)

新興尿路感染症起因菌の *Actinotignum* 属菌種は、培養が煩雑であり、生化学性状試験による識別が難しいことから、臨床現場において同定が困難な菌群として認識されている。従来法では菌種レベルの正確な分類が不可能であるため、本研究では系統解析に有用な遺伝子を見出し、迅速に分類同定できる手法の確立を目的とした。*Actinotignum* 属菌種 50 株について 18 種の Housekeeping gene を用いて系統解析を行い、ゲノム解析の結果と一致する遺伝子を探索した結果、*gyrA* および *gyrB* 遺伝子を用いることで菌種レベルまで明確に分類できることを見出した。また、*Actinotignum* 属菌種による感染症では、各抗菌薬のブレイクポイントや治療法が十分に策定されていないことも問題となっている。そこで、本属菌種の薬剤感受性および耐性の傾向を明らかにした。MIC 測定の結果、βラクタム系薬剤の MIC₉₀ は 0.1 μg/mL 以下であり、感受性を示した。キノロン系、マクロライド系、リンコマイシン系薬剤には一部の株が耐性を示した。耐性機構について調べたところ、キノロン系薬剤への耐性には *gyrA* 遺伝子の変異が、マクロライド系薬剤への耐性には *erm(X)* 遺伝子の関与が示唆された。

嫌気性環境に棲息する未知の捕食性原核微生物の探索・分離と多様性解明

山本 京祐 (産業技術総合研究所生物プロセス研究部門)

微生物間の捕食—被食関係は相互作用する種の個体群サイズ変化をもたらし、微生物群集動態を規定する要因のひとつとして重要である。一方で、現在知られている捕食性原核微生物はほとんどが好気性生物であり、嫌気環境における捕食性微生物の生理生態やその微生物群集動態・機能への寄与はほぼ不明である。本研究では、嫌気環境から捕食性原核微生物を検出、分離培養し、捕食性生活様式の分布を明らかにすることを目指した。水田湛水土壤や嫌気性排水処理過程等を対象環境とし、微生物群集構造解析による捕食性系統の調査や顕微鏡観察による検出、さらには分離培養を実施した。その結果、複数の環境から捕食性細菌を含むと予想される系統の存在を検出したほか、実験室内で構築された嫌気消化リアクターからはメタン生成アーキア細胞に付着して存在する捕食/寄生性細菌の存在を見出した。また、様々なサンプルを分離源としてプラーク形成法およびスウォーム形成法による分離培養を試みたところ、餌細菌を溶菌し生育する活性を有する複数の菌株を取得することに成功した。

醤油酵母の分類に関する研究

渡部 潤 (福島大学食農学類)

醤油酵母 *Zygosaccharomyces* sp. は日本の伝統的な発酵調味料である味噌や醤油の製造に重要な微生物である。近年、この酵母は1倍体の *Zygosaccharomyces rouxii* と近縁の他の1倍体酵母 (Strain X とする) とのハイブリッド、すなわち異質2倍体であることが明らかになった。1倍体の *Z. rouxii* の耐塩性は醤油酵母 *Zygosaccharomyces* sp. と比較して低いことから、醤油酵母において重要な形質である耐塩性は Strain X 由来である可能性がある。いまだ発見されていない Strain X を自然界から探索するため、味噌、ハチミツ、ミツバチのフン、たぐり飴、樹液など高浸透圧の食品等から酵母を分離した。分離された酵母の顕微鏡観察及び 26S rDNA-D1/D2 領域のシーケンス解析により *Zygosaccharomyces* 属酵母を絞り込み、T-サブゲノム、P-サブゲノム特異的なプライマーで PCR を実施した。現時点で、Strain X の兆候を示す株は得られていない。

シングルセルソーティングによる新規温泉アーキアの網羅的分離培養およびリソース化

加藤 真悟 (理化学研究所バイオリソース研究センター)

アーキアは、全生物界の一翼を担う生物群であり、「生命とは何か」を理解する上で欠かせない研究対象である。しかしながら、多くのアーキア系統群において、分離培養株が未だ得られておらず、リソース化もできていない。それゆえ、我々のアーキアの生理・生態に関する知見は極めて限定的である。本研究では、国内の温泉に生息する未培養アーキアを対象として、シングルセルソーティングおよび限界希釈法による新規温泉アーキアの網羅的分離培養およびリソース化を試みた。まず、4つの温泉地において、メタゲノム解析を行い、得られたゲノム情報に基づいて、主要アーキアの培養条件の検討を行った。セルソーターを用いて1細胞ずつ96穴プレートに分取し、検討した条件下で培養を行った結果、種レベルで新規の好酸性バクテリアの分離培養に成功した。並行して、限界希釈法も実施した結果、科レベルで新規の好熱好酸性アーキアの分離培養に成功した。その他、複数の種レベルで新規の好熱好酸性アーキアの分離株も獲得できた。得られた分離株は JCM に寄託し、リソース化した。

日本産アミガサタケ類の多様性解明と栽培化実現に向けた系統分類的整理

吉田 裕史 (岩手生物工学研究センター生物資源研究部)

アミガサタケ類 (*Morchella* spp.) は食用として世界的に珍重される一方で、発生環境や共生関係などの生態は明確でなく、その背景には基盤としての多様性解明の遅れがある。分類上は子実層の色が異なる3クレードに分かれることが分子系統的にも支持されているが、さらなる細分については従来の形態的分類が妥当でないことが指摘されている。本研究ではまず、国内各地から採集されたアミガサタケ類子実体標本について、複数座のDNA配列に基づく分子系統解析を実施した。標本群は黄色系・黒色系の2クレードに分かれ、さらに黒色系の中で複数のグループを成した。GCPSR理論に依拠して種の境界を推定したところ、黒色系の3種が識別された。これら3推定種の標本採取地を比較したところ、緯度の異なる3エリアにそれぞれ偏って分布した。3推定種につき代表各1株の単孢子由来培養株をMinIONロングリードシーケンシングに供した。各種パイプラインによるde novoアセンブリを経て、52.7–56.5 Mb, 28–36 contigsの3アセンブリを取得し、連続性は染色体スケールに近く、網羅性はBUSCO値95%超の評価となった。今後、構築したゲノム情報を元に、種間比較と多様性解明をさらに進展させたい。

ヒト腸内有益放線菌の役割—迅速検出法と選択分離法の構築—

武 晃 (北里大学医学部)

我々は、難治性下痢症患者に対する糞便微生物移植治療 (FMT) に成功し、本症例の回復とともに放線菌が検出されることを明らかにした。そこで、健常人において、どのような割合で糞便から放線菌が検出されるかを調べるため、簡易迅速検出・定量法と選択的分離法の構築に向けて条件検討を行った。まずは放線菌の転写調節因子BldD遺伝子を基に有益な放線菌群のみ有する配列を抽出し、特異プライマー対を作成した。それを用いて土壌の環境DNAをPCR後、相同性解析を行った結果、想定した菌群のみの増幅が認められた。一方で、ヒト糞便に対して同様の検討を行ったところ、目的遺伝子の増幅は確認できなかった。このことから今後、ヒト糞便からの放線菌DNAの精製過程を検討する必要がある。次に、各糞便からカプセル法などを用いて放線菌の分離を試みたところ、目的外の細菌が大量に生育したため、抗生物質による選択分離の検討を行った。その結果、セフトジジムが有効であることが判明し、4人のヒト糞便から6属14種20株の放線菌を得ることに成功した。今後、分離株の性状解析を行うことにより、ヒト腸内での常在放線菌の役割を明らかにすることが期待される。

新規乳酸菌の系統分類とバイオリソースの整備

野田 悟子（茨城大学大学院理工学研究科）

乳酸菌は糖から乳酸を生成する細菌の総称である。多くの分類群を含む乳酸菌類のうち *Lactococcus* 属は、Schleifer らによって *L. lactis* を *Streptococcus* 属から分離して提唱された属である。代表的な乳酸菌である *Lactobacillus* 属が 250 以上の種から構成されているのに対し、*Lactococcus* 属は研究開始時点で 20 数種しか記載されていなかった。乳や発酵食品以外から分離された種が多いが、最近では昆虫の消化管からの分離例も増加している。そこで本研究では、数種のシロアリ種を分離源として *Lactococcus* 属を単離することを試みた。新種を含む複数の株を単離し、保存機関への寄託を行った。次いで、分離株のゲノム解析を行い、本属のタイプ種とともに全ゲノム配列に基づいた系統解析を行った。その結果、本属は 2 つのクラスターに分類され、我々がシロアリ腸内から分離した別属の乳酸菌も含めた解析から、*L. lactis* の近縁種グループと、シロアリから分離される種を多く含むグループは別の属として整理することが必要であると考えられた。

プラスミド宿主域を用いた微生物分離法の利用域拡大

木村 善一郎（呉工業高等専門学校環境都市工学分野）

（要旨）環境微生物のほとんどは未分離であり、埋蔵された膨大なバイオリソースへのアクセス方法の確立は環境・応用微生物学における重大な未達成課題である。

現状微生物分離に利用される方法論は、環境中の分離対象細胞に好適な環境を作る、いわば「菌に我々が合わせる」培養法である。だが、99.9% を超える未分離バイオリソース全てに好適な環境を用意することは不可能に近い。本研究では「菌を我々に合わせる」分離戦略を考案し、実環境試料への実装を検討した。具体的にはプラスミドの宿主域そのものを微生物分離の選択圧とすることがアイデアである。この手法により宿主域選択的に抗生物質耐性等の強力な選択圧を分離対象に付与し、「菌を我々に合わせる」ことが可能である。

本研究ではいくつかの菌種の混合物によるモデル複合系および、固体培地上に形成された複合微生物コロニー群集を対象に本法の適用を試みた。モデル複合系では pUC19 プラスミドを発現可能な種（大腸菌）のみを <0.1% の存在比で効果的に分離可能であること、さらに同様の操作を複合微生物コロニー群においても、新規細菌の分離が可能であることを解明した。詳細を会場で議論したい。

出芽酵母より見出した新規な糖リン酸化酵素の生理的役割の解明

梅川 碧里 (三重大学大学院生物資源学研究科)

N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) は、細胞壁や糖タンパク質糖鎖の構成糖として不可欠である。GlcNAc キナーゼは、ATP をリン酸基供与体として GlcNAc をリン酸化し、GlcNAc 6-リン酸を生成する酵素であり、バクテリアから動物に至る広範な生物より見出されている。しかし、モデル酵母である *Saccharomyces cerevisiae* (出芽酵母) においては、ゲノム配列より推定される GlcNAc キナーゼおよび GlcNAc 代謝経路は存在しないと考えられてきた。我々は最近、出芽酵母より新規な GlcNAc キナーゼ (データベース上の既知酵素との相同性は約 20% 以下) を発見した。本研究では、当該酵素・代謝経路の出芽酵母における役割の解明を目的とした。

出芽酵母の機能未知遺伝子 *YLR446W* が GlcNAc に特異的に作用する GlcNAc キナーゼをコードすることを発見し、遺伝子名を *NGK1* としてデータベースに登録した。Ngk1 の遺伝子欠損株・過剰発現株を用いた解析により、出芽酵母は細胞外から取り込んだ GlcNAc を Ngk1 を介して代謝し糖鎖生合成の基質である UDP-GlcNAc の生合成に利用することを明らかとした。さらに、Ngk1 は、多量の UDP-GlcNAc を消費する細胞壁キチンの生合成を促すことが示唆された。本研究により、出芽酵母における GlcNAc 代謝経路の存在とその糖鎖生合成における役割が明らかとなった。

D-サイクロセリン生合成に関わる金属酵素の活性制御機構

的場 康幸 (安田女子大学薬学部薬学科)

一酸化窒素合成酵素 (NOS) はヘム結合タンパク質であり、アルギニンから一酸化窒素 (NO) を合成する。この反応では、中間体として *N*-ヒドロキシアルギニン (NOHA) が生じる。生じた NOHA は、アルギナーゼを阻害しアルギニンの分解を抑制する。当研究室では、抗生物質 D-サイクロセリンの生合成機構を研究する過程で、アルギニンから NOHA までの反応しか触媒しないヘム酵素 DcsA と、NOHA を特異的に加水分解するアルギナーゼ類似酵素 DcsB を発見した。本研究では、これら 2 つの金属酵素の活性制御機構を原子レベルで明らかにすることを目的とする。

本研究では、反応物である NOHA と複合体を形成した DcsA の結晶構造、および、反応中間体アナログ ABH と複合体を形成した DcsB の結晶構造を高分解能で決定した。NOHA と複合体を形成した DcsA の結晶構造では、ループの移動や遠位ポケットに存在する残基の配座変化により、基質結合ポケットが形成されていた。また、ABH と結合した DcsB では、活性中心付近に陽イオン結合サイトが見いだされ、特殊酸触媒として働くヒドロニウムイオンを保持する役割を持つと考えられた。

オミックス解析による酵素の探索とその理解

松沢 智彦 (香川大学農学部)

植物が生産する多糖類は構成糖の種類や結合様式によって多種多様であり、微生物は環境中に存在する多糖類に適した分解酵素を生産することで多糖類を分解・利用している。黄麹菌 *Aspergillus oryzae* はそのゲノム中に 300 を超える (推定) 糖質加水分解酵素をコードする遺伝子を有しているが、その多くは機能が未解明である。糖質関連酵素はその基質によって特異的に発現が誘導されることが多い。そこで本研究ではトランスクリプトーム解析によってオリゴ糖や単糖の存在下において特異的に発現が誘導される推定酵素をコードする遺伝子に着目し、解析を行なった。まず、様々な単糖類 (アラビノースやフコースなど) や多糖類の酵素分解によって調製したオリゴ糖 (キシログルカンオリゴ糖やアラビノキシランオリゴ糖) を炭素源とする培地で培養した *A. oryzae* から RNA を抽出し、RNA-seq 解析によって各糖質で発現が著しく変動する遺伝子を探索した。これらの遺伝子のいくつかを異種宿主発現させ、その機能を解析した結果、複数の新規酵素を同定した。

極低濃度の抗生物質が示す新作用：細菌の細胞間形質転換を促進する作用

前田 純夫 (奈良女子大学大学院生活環境科学系)

第一次産業や医療での抗菌薬の大量常用を原因とする、新規抗生物質耐性菌の発生と蔓延が世界的に問題化している。これら耐性菌の発生は、遺伝子水平伝播が主機構とされる。申請者は近年、極低濃度 (sub-MIC) のアンピシリンが、大腸菌の細胞間形質転換による遺伝子水平伝播を顕著に促進する新現象を発見した。本研究では、この「sub-MIC 抗生物質の細菌への新作用」に関して、①発生に影響する環境要因の探索、②普遍性検証、および③機構解析を行うことを目的とした。実験系には、申請者が独自構築してきた「大腸菌の気相-固相バイオフィームでの細胞間形質転換系 (外からの DNA 添加なしに、バイオフィーム内で細胞から細胞へプラスミド DNA が形質転換で移る系)」を主に用いた。その結果、①環境要因探索では、強い促進因子としてガラス球やハブラシ等による穏和な機械的刺激、抑制因子としてリゾチームなどを見出した。②普遍性検証では、抗生物質 12 種、プラスミド数種、大腸菌数株、枯草菌 1 株、で発生を確認した。③機構解析では、変異株解析により、複数の環境ストレス応答機構が本現象の発生・制御に関与する可能性を見出した。

生体内の GTP 量を感知しエピジェネティックに発現制御される遺伝子の機能解明

沖 昌也 (福井大学学術研究院工学系部門)

DNA 配列に依存しないエピジェネティックな発現は、DNA やヒストンの修飾状態によるクロマチン構造変化によって制御されており、一般的にクロマチン構造が凝集したヘテロクロマチン内では遺伝子の発現が抑制されている。また、ヘテロクロマチン領域は起点となる場所から伸長していくが、どこまでも伸長せず境界で停止する。我々は出芽酵母を用い、ヘテロクロマチン領域の境界近傍に存在する GTP 合成に参与する遺伝子 *IMD2* が、細胞内の GTP 量の減少に伴いヘテロクロマチン領域の変動により発現状態が制御されていることを見出した。しかし、細胞内の GTP 量の減少をどのように感知し、生体内に多数存在するヘテロクロマチン領域のうち、*IMD2* 近傍のヘテロクロマチン領域のみを変動させるのかは明らかになっていなかった。

そこで本研究では、既に分離していたヘテロクロマチン領域の境界制御に関わる遺伝子の破壊株を用いた解析と、*LacZ* をレポーター遺伝子として用いランダムに変異を導入し、GTP 量が減少しても発現が誘導されない酵母株を分離するスクリーニングを行い候補となる遺伝子の分離に成功した。本発表では分離された遺伝子をもとに現在考えている発現制御モデルも報告する。

酵母の成長・分裂様式の可塑性の基盤解明

五島 剛太 (名古屋大学大学院理学研究科)

本研究では、海生真菌類の多様性の把握に加え、どのような様式で増殖しているのかを明らかにすること、そして、その様式の基盤となる分子機構の解明を目指した。まず、名古屋大学菅島臨海実験所前の海で取得した海水、泥、生物片から数十種の真菌類が同定された。ライブ観察により、細胞密度に応じて成長・分裂様式を変換する、すなわち、表現型可塑性を示す種が複数見出された (Goshima, 2022)。黒色酵母 2 株についてはゲノム配列を決定し、Dothideomycetes 綱に属する未記載種であることがわかった (Kurita et al. 2023)。さらに、生物進化実験法を用い、表現型の可塑性を示さなくなった変異体を多数取得した。変異体のゲノム配列を調べたところ、真菌類に広く保存された転写因子やシグナル伝達関連因子、RNA 結合タンパク質をコードする遺伝子に変異が入っていた。相同組換え法を開発して遺伝子破壊を実現し、これらの遺伝子が原因であることを確認した。表現型可塑性については動植物で多くの記述があるが、分子機構が明らかになっている事例は少ない。本研究は、強力な分子遺伝学的手法を適用できる真菌類において、表現型可塑性の研究基盤を整備し、実際に分子機構の一部を突き止めたことになる。

***Bifidobacterium bifidum* 糖質分解酵素によるムチン糖鎖コア切り分けの分子メカニズムの解明**

加藤 紀彦 (京都大学大学院生命科学研究科)

ヒト常在性ビフィズス菌 *Bifidobacterium bifidum* はムチン分解活性を示す。本研究では、3つの β -N-acetylglucosaminidase (β -GlcNAc-ase) 遺伝子の解析によって本菌の持つムチン糖鎖コア構造の分解経路について明らかにした。すなわち、glycoside hydrolase family 20 (GH20) ドメインを含む *bbhI*, GH84 ドメインを含む2つの未知遺伝子 *bbhIV* および *bbhV* について、組み換え酵素を用いた基質特異性の解析、遺伝子欠損株のムチン培地での増殖能の検討および培養後のムチン糖鎖構造の比較解析を行った。その結果、BbhI はコア3の β -1,3-GlcNAc 残基に、BbhIV はコア2あるいはコア4の β -1,6-GlcNAc 残基にそれぞれ作用することが明らかとなった。コア2はBbhIVによってコア1に、コア4はBbhIVによってコア3にそれぞれ変換され、コア3はさらにBbhIによってTn抗原へと分解される。一方、BbhVはムチン糖鎖に対して顕著な活性を示さなかったことからムチン以外の糖鎖の分解に関わる可能性が示された。

TORC1 シグナル経路を介した酵母細胞の高温増殖制御

両角 佑一 (奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科)

生物の生息する環境温度は、下は氷点から上は110°C程度までと驚くほど多様であるが、個々の生物種の生育温度は比較的限定的であり、わずかな温度上昇も生物の生存を脅かす熱ストレスになり得る。分裂酵母の生育限界温度は37°C程度であり、わずか1°C上昇した38°Cでも顕著な生育阻害を示すが、申請者はTORC1 キナーゼ複合体の阻害剤であるラパマイシンによって、分裂酵母細胞が39°Cの高温でも生育できるようになることを見出した。このことは、細胞増殖促進因子として知られるTORC1が、高温では増殖を抑制していることを示唆している。本研究では、TORC1 シグナル経路を介した分裂酵母の高温増殖抑制メカニズムの解明を目指した。まず、TORC1の基質として知られているSck1 キナーゼが、高温生育を抑制していることがわかった。また、遺伝子破壊株ライブラリーを用いたスクリーニングにより高温増殖を抑制する因子として同定されたMks1は、TORC1によってリン酸化されることが明らかになった。さらに、Mks1は14-3-3タンパク質であるRad24と複合体を形成し、Sck1とは独立して機能することがわかった。これらのことから、TORC1はSck1とMks1の2つの基質を介して分裂酵母の高温増殖を抑制していることが示唆された。

バイオエコノミー技術への貢献を志向した植物ホルモン様物質による微細藻類の増殖制御と回収法の開発

高橋 利幸（都城工業高等専門学校物質工学科）

微細藻類は次世代バイオマスとして注目され、化学製品、食品など広い分野で期待されている。一方、発酵微生物と比べ、微細藻類の増殖は遅く、量の確保が恒常的課題である。

植物では様々な作用の植物ホルモンが知られ、一部のホルモンは農業利用もされているが、微細藻類への知見は少ない。植物でストレス応答作用に関与する植物ホルモンのジャスモン酸には複数の分子形態がある。本研究で検討した2種類のジャスモン酸類は、その濃度により微細藻類の生存率（高濃度で致死誘導）、増殖挙動（高濃度で増殖阻害、低濃度で増殖誘導）や浮遊特性（至適濃度で凝集誘導）に対する顕著な影響が確認された。なお、藻類の凝集が起きる条件では、ジャスモン酸類により一時的に培養液の極性が低下し、これが微細藻類の浮遊性を変化させた可能性ある。また、生じた藻類の凝集塊は、遠心操作不要で藻類を沈降させたり、簡易なる過で藻類を回収可能であった。

微細藻類の応用利用では、藻類の培養・回収における技術制約が最終製品の高コストにつながっている。本研究で見出された植物ホルモン様物質の微細藻類に対する作用は、藻類利用の律速要因を解決可能な技術として展開が期待できる。

腸炎ビブリオ菌が腸管の粘性環境に応答して病原性を発揮する仕組みの解明

寺島 浩行（長崎大学熱帯医学研究所，現 金城学院大学薬学部）

感染症において、病原性装置は適切な場所・タイミングで使用しない限り、十分な病原性が発揮されない。そのため、腸炎ビブリオが胃腸炎を起こしたということは、病原性を発揮できる場所へ移動した結果であると考えられる。そこで、腸炎ビブリオが腸管内環境にどのように応答し移動するのか明らかにし、運動性と病原性を連結させた包括的な感染メカニズムの解明を目指した。

べん毛運動する細菌は、走化性によって自身の移動が制御される。腸炎ビブリオはヒト小腸下部に感染するため、ヒト腸内に存在する代謝物に対して腸炎ビブリオが誘引される、あるいは忌避するかどうか検証した。その結果、乳酸、プロピオン酸、酪酸、ピルビン酸が誘引物質であることが示唆された。次に、これらの物質を認識する走化性受容体の同定を行なった。その結果、Mcp1がピルビン酸・乳酸・セリンを、Mcp27がプロピオン酸・酪酸を、Mcp28が乳酸・プロピオン酸・酪酸を誘引物質として認識していた。また、Mcp27については、酢酸を忌避物質として認識していた。現在、30種類の走化性受容体を全て欠失させた株を作成し、各受容体が認識する化学物質の網羅的探索を計画している。

麴菌の製麴時に見られる発熱現象の分子生物学的，生化学的解析

外山 博英（琉球大学農学部亜熱帯生物資源科学科）

蒸した米に麴菌を生育させ，麴を作る工程を製麴といい，麴菌は米のデンプンを糖化しながら生育する．泡盛製造では黒麴菌 (*Aspergillus luchuensis*) を使い製麴し，品温は麴菌の生育を妨げる温度まで上昇する．温度が高まる原因は麴菌の呼吸によるものとされているが，詳細な生化学的なメカニズムは分かっていない．本研究では，植物において発熱因子と言われている，代替酸化酵素 Aox が，黒麴菌においても品温上昇に関与していると仮定し，黒麴菌 *aoxA* 遺伝子の破壊株 (Δ *aoxA*) と過剰発現株 (OE*aoxA*) を造成し，麴の品温に影響を与えるか検討した．製麴は手入れを必要としない無通風箱培養法にて行い，詳細な品温測定を行った．その結果，親株と比較して， Δ *aoxA* 株で僅かに高く，OE*aoxA* 株で低い品温となり，当初の予想とは逆の結果となった．以上の結果から，黒麴菌では AoxA が発熱現象の直接的な要因となっていないことが示唆された．一方，AoxA 自身の役割を明らかにするために，製麴におけるメタボローム解析を行った．加えて，クエン酸生産と品温との関係についても調べたので報告する．

ゲノム構造から紐解くヒト常在性日和見レンサ球菌の病原性進化メカニズム

田端 厚之（徳島大学大学院社会産業理工学研究部）

本研究では，ヒト口腔常在性の日和見病原性レンサ球菌，特にミテイス群レンサ球菌に注目し，その病原性進化に携わるゲノム構造の特徴を見出し，病原性進化のメカニズムを明らかにすることを目的に検討を行った．具体的には，*Streptococcus infantis* を対象として，病原性グラム陽性細菌が産生する β 溶血毒素 (CDC) のコード遺伝子を保有する株を新たに見出し，次世代シーケンスで完全長ゲノム配列を決定して，CDC 遺伝子非保有株との比較解析を行った．その結果，CDC 遺伝子保有株では，非保有株のゲノム上の特定の位置に CDC 遺伝子が挿入されていること，その CDC 遺伝子挿入部位の近傍に挿入配列 (IS) の痕跡が確認されたこと，更にこの CDC 遺伝子の挿入位置は *S. infantis* に特徴的であること，などの新たな知見が見出された．これらの結果より，CDC などの病原因子のコード遺伝子がレンサ球菌において菌種別に伝播している可能性が示唆され，日和見レンサ球菌種に特徴的な病原性進化の視点から非常に興味深い．本研究で得られた知見は，今後，日和見レンサ球菌の病原性進化の抑止への貢献が期待される．

エゾマツの天然更新を阻害する雪腐病菌の種構成と冬季の環境条件との関係の解明

松下 範久（東京大学大学院農学生命科学研究科）

本研究では、エゾマツの種子や稚樹を加害する雪腐病菌の種を特定し、積雪下での各菌種の生態を明らかにすることを目的とした。東京大学北海道演習林内の2つの地域において、積雪期間が1～2週間程度異なる標高500 mと700 mに調査地を設定し、積雪下でエゾマツ種子に感染する菌を分離した。その結果、標高間で菌類群集が異なっており、高標高では *Herpotrichia juniperi*、低標高では *Neonectria candida* の分離率が高かった。また、*H. juniperi* は、分子系統解析により3つの種内系統に分けられた。分離された26種をエゾマツ種子へ接種した結果、上述の2種を含む8種に強い病原力が認められた。土壌層やリター層、積雪直前の落葉に定着した菌類群集の調査結果から、*H. juniperi* は積雪下の土壌表層を腐生的に拡大しながら種子に感染するのに対し、*N. candida* はわずかな感染源が高い感染力によって種子に感染することが示唆された。一方、1968年に北海道で発見された雪腐病菌 *Phacidium abietis* の分類学的再検討を行い、新属新種の *Chionobium takahashii* として報告した。

異なる木質基質に依存するシロアリ腸内微生物叢の解析

徳田 岳（琉球大学熱帯生物圏研究センター）

下等シロアリは後腸内に多様な原生生物とバクテリアを保有しており、これらがシロアリによる木材消化に大きく貢献していることが知られている。木材は主にセルロース、ヘミセルロース、リグニンから構成される。本研究では、下等シロアリの一種であるスギオシロアリにセルロース、ヘミセルロースの主成分のひとつであるキシラン、リグニン、または一次細胞壁の主成分であるペクチンを構成するポリガラクトuron酸のいずれかを摂食させ、腸内微生物叢の変化を検討した。後腸内における原生生物の細胞数をカウントした結果、木材やセルロースを摂食した場合に比べ、その他の基質を摂食した場合には減少傾向にあった。他方、後腸内のバクテリア数は16S rRNAに対する定量PCRの結果から、いずれの基質を摂食させた場合においても大きな変化はないことが示唆された。アンプリコン解析の結果、木材やセルロース食に比べて他の基質を摂食した場合には、*Devescovina* 属や *Fonaina* 属原生生物の相対量が減少しており、それに伴い *Armantiflum* 属バクテリアの相対量も減少していた。各処理区における後腸内共生微生物のメタトランスクリプトームの結果、木材やセルロース食以外ではGH7セルラーゼの発現量が大きく低下していた。

細菌外膜の機能維持に関与するシャペロン／プロテアーゼの新規機能の解析

成田 新一郎 (山形県立米沢栄養大学健康栄養学部)

グラム陰性細菌の外膜が異物に対する効果的な透過障壁として働くためには、外膜タンパク質の構造と機能が正常に保たれていることが必要である。BepAはそのシャペロン様活性によりリポ多糖の輸送に関わる外膜タンパク質 LptD のアセンブリを促進するとともに、アセンブリが阻害された LptD を分解するプロテアーゼとしても働く。

BepA および外膜タンパク質の膜組み込みに働く BAM 複合体の構成因子 BamB を欠損する大腸菌は、SDS に対して感受性を示す。本研究では BepA が外膜の機能維持に果たす新規機能を明らかにするために、*bepA/bamB* 欠失株から SDS 耐性株を選択して解析を行った。その結果、アデニル酸シクラーゼをコードする *cyaA* 遺伝子の変異によって cAMP-CRP 複合体の活性が低下すると、*bepA/bamB* 欠失株が SDS に耐性化することがわかった。cAMP-CRP による転写制御を受ける遺伝子の中から SDS 感受性に関与する遺伝子を探索したところ、外膜タンパク質をコードする *lamB* や *fadL* の発現上昇が *bepA/bamB* 欠失株の SDS 感受性を増悪することがわかった。これらの結果から BepA は、大腸菌が cAMP-CRP 依存的な転写制御によって炭素源やエネルギー源の枯渇に対応する際に、BAM 複合体と協調して外膜タンパク質の構造と機能を維持することで、環境変化への順応に貢献していると考えられる。

超好熱性アーキアにおける RNA 耐熱化機構の解明

平田 章 (徳島大学大学院社会産業理工学研究部)

アーケオシン (7-アミジン-7-デアザグアニン) は、アーキアに特有の tRNA 修飾ヌクレオシドであり、tRNA 自身の耐熱化に寄与している。これまでに、アーケオシン合成過程における最後の 2 段階反応を担う tRNA 修飾酵素複合体 ArcS-RaSEA を見出した。しかしながら、ArcS-RaSEA がどのように tRNA15 位の preQ₀(7-シアノ-7-デアザグアニン) のシアノ基に Lys を転移し、その後 S-アデノシル-L-メチオニン (SAM) を用いたラジカル SAM 反応により、アミノ基を残すため C-N 結合開裂をするのか、それらの連続的触媒反応機構は未解明である。我々は、まず ArcS による Lys 転移反応について速度論的解析法を確立し、ArcS の最小基質を調べた。その結果、ArcS は tRNA の二次構造および配列を認識しているのではなく、preQ₀ が最小基質であることが分かった。また、ArcS の X 線結晶構造を決定した結果、ArcS の二量体形成が基質認識に重要であることが示唆された。本発表では、ArcS の基質触媒機構だけでなく、どのような tRNA 修飾が超好熱アーキアの高温生育に必須であるかも議論したい。

卵菌の温度に応答した形態形成制御に関わる因子の同定と機能解析

谷 修治 (大阪公立大学大学院農学研究科)

卵菌 *Phytophthora infestans* による疫病の蔓延は、低温環境下で遊走子嚢から放出される遊走子が拡散することに起因する。遊走子の放出は貧栄養条件下で起きること、植物に付着した遊走子がシストを形成し、発芽後に植物に感染する機構にカルシウムシグナリングが重要な役割を担うことが知られているが、その分子機構は未解明である。本研究では、アンモニウムイオノフォアの dinactin を用いた解析により、菌体内アンモニウム濃度の上昇により遊走子放出が阻害されることを見出した。また、低温環境下でおきる形態分化の内、シストからの発芽を阻害する β -rubromycin を用いた解析では、 β -rubromycin 存在下で遺伝子発現量が減少した Annexin が、遊走子嚢の形成、遊走子放出、シスト形成、固体培地上での菌糸伸長に参与することを明らかにした。以上の結果から、低温条件下で起きる細胞膜の流動性の低下が、カルシウム依存的にリン脂質に結合する Annexin などの機能を介して形態分化を誘導する可能性が示唆された。

植物病原糸状菌の新規病原性獲得機構に関する遺伝学的研究

宇佐見 俊行 (千葉大学大学院園芸学研究院)

子のう菌類 *Berkeleyomyces rouxiae* は多犯性の植物病原菌で、タバコやニンジンなどの病原菌として古くから知られていた。一方、本菌によるレタス黒根病は、日本では2016年に群馬県で初めて発生し、その後各地で発生した。レタス以外から分離された国内菌(非レタス菌)は、レタスに顕著な病原性を示さず、レタスへの接種と再分離を繰り返しても病原性を獲得しなかった。本菌のドラフトゲノム解析により多数のマイクロサテライトマーカを開発し、国内菌の系統解析を行ったところ、レタス黒根病菌と非レタス菌は明確に異なった。従って、国内に新たに発生もしくは侵入した菌がレタス黒根病を引き起こしたと考えられた。米国では2005年頃より本病害が発生しているが、国内のレタス黒根病菌は米国産菌株とも系統的に大きく異なり、米国から伝染した可能性は低いと考えられた。また、様々なレタス品種の黒根病感受性を調査した結果、高い感受性を示すサリナス系品種が2000年以降に多く、本病が顕在化した一因になった可能性がある。本菌のレタスに対する病原性決定遺伝子を解明するため、本菌の形質転換系を確立してマーカー遺伝子を導入した菌株を作出したが、擬有性生殖による交雑は確認できなかった。

原始的リボソームの構築と進化の考察

赤沼 元氣 (学習院大学理学部生命科学科, 現 城西大学理学部化学科)

原始的な生命は RNA で構成されていたと予想されており, リボソームの起源も RNA であると考えられている. そこで, 枯草菌リボソームからリボソームタンパク質を除去し, 原始的なリボソームに近づけることで進化の過程を考察しようと試みた. リボソームタンパク質をコードする遺伝子を連続的に欠失させるために, まずは枯草菌の自然形質転換能を極限まで高める実験系を作製した. 形質転換時の溶菌を抑えるためにプロフェージ領域を欠失させ, 形質転換誘導に必要な ComK, ComS タンパク質の発現を人為的に誘導可能な株を作製した. この株を元に培養条件をさらに改善し, 最終的に 1 塩基置換の組換えにおいて 60% もの頻度で形質転換を起こすことに成功した. 既報の最高が 0.8% であることと比較すると驚異的な効率であることが分かる. また, コロニー PCR で確認が可能な 31 bp の短い欠失でも 14% という高い効率で形質転換体を得ることができた. この実験系を活用して, 現在までにリボソームタンパク質 L9, L15, L35 の三重欠損に成功した.

アスガルド古細菌から紐解く細胞形態の制御機構の分子進化

千住 洋介 (岡山大学異分野基礎科学研究所)

真核生物に近い系統と考えられている, アスガルドと命名された新規古細菌のメタゲノム解析によるゲノムの再構築や分離・培養の成功から, 真核生物に相同性を持つタンパク質をコードする遺伝子が発見されている (Imachi *et al.*, Nature, 2020). これは, 真核生物様タンパク質による細胞膜の形態形成などの機能が, 古細菌にも共通して保存されている可能性を示唆している. 例えば, アスガルド古細菌が宿主として, 真核生物様タンパク質を利用して真正細菌をファゴサイトーシス (食作用) により取り込んだのかもしれない. 真核生物が原核細胞からどのように生じたのかは今のところよく分かっていない. しかし, アスガルド古細菌が真核生物と同様な細胞機能をすでに獲得していたことを理解すれば, 真核生物と原核生物のミッシングリンクを埋める可能性を秘めている. 本研究の目的は, アスガルド古細菌に見出された真核生物様タンパク質の構造・機能相関を手掛かりに, 細胞膜の形態形成のような生命現象がどのように保存され, 進化してきたかを明らかにすることで, 真核生物起源の一端を解明する.

コムラサキシメジにおけるフェアリー化合物と一酸化窒素の生合成機構・生理的役割の解明

崔 宰熏 (静岡大学農学部, 現 静岡大学グローバル共創科学部)

芝草を輪状に繁茂もしくは枯死した後にキノコが発生するフェアリーリング現象の惹起物質として発見され、コムラサキシメジ菌糸体培養濾液から単離されたフェアリー化合物である 2-azahypoxanthine (AHX) は分類学上の科に無関係に試験したすべての植物に対して成長調節活性を示した。AHX は天然物として前例が無い六員環に窒素原子が3個連続した 1,2,3- トリアジン基を有しており、その唯一無二な骨格の形成機構の完全解明を目的として、コムラサキシメジを用いた AHX 生合成研究を行った。コムラサキシメジに8個存在する NO synthase (NOS) の中で高発現していた rNOS2 及び rNOS8 が産生する NO が 5-aminoimidazole-4-carboxamide (AICA) に非酵素的に取り込まれ、AHX が生成することを既に報告している。本研究では L-Arg 処理時に高発現する NOS 遺伝子をリアルタイム PCR により探索した結果、最も高発現していた NOS5 遺伝子、及び哺乳類と類似したドメイン構造をもつ NOS4 遺伝子を大腸菌に異種発現させ *in vitro* 酵素活性試験を行い、rNOS5 及び rNOS4 が産生する NO が rNOS2, rNOS8 と同様に AHX の窒素源となることを明らかにした。

ビブリオのステロイド誘導性自己凝集体形成機構の解析

松田 重輝 (大阪大学微生物病研究所)

細菌の環境での生存戦略の一つに、バイオフィームや凝集体のような集合体の形成が挙げられる。このような集合体形成は単細胞である細菌の集団行動を可能にし、自然環境での適応のみならず、病原細菌の場合には感染時の病原性発揮に重要な役割を果たしている。我々は、主要な食中毒原因細菌である腸炎ビブリオが胆汁酸のようなステロイド骨格を有する化合物の刺激によって液相中で速やかに自己凝集体を形成することを見出した。腸炎ビブリオを用いた解析により、この凝集体形成は病原株でのみ生じ、本菌の主要な病原因子であるⅢ型分泌装置に依存していることが明らかになった。Ⅲ型分泌装置関連遺伝子の欠失株の解析により、既知のⅢ型分泌エフェクターはこの凝集体形成に必要でない一方で、細胞外構成成分の関与が示唆された。腸炎ビブリオの属するビブリオ科細菌は水圏環境における代表的な細菌群の一つであり、100以上の多様な種によって構成されるが、他の一部の菌種においても同様の凝集反応が観察された。これらの結果はビブリオのⅢ型分泌装置が従来理解されている細菌—真核生物間相互作用だけでなく、菌体間相互作用にも機能していることを示すものである。

擬似有性生殖を介した植物共生菌および病原菌の進化機構の解明

竹本 大吾（名古屋大学大学院生命農学研究科）

イネ科牧草に共生する *Epichloë* 属エンドファイトは、植物組織内で植物を病害虫から守る様々な生理活性物質を産生する。自然界から分離されるエンドファイトの多くは不完全菌であり、生理活性物質の生産能は極めて多様である。また有性世代をもつ菌株と比較して、不完全菌エンドファイトの染色体数は著しく多くサイズも多様であったことから、不完全菌エンドファイトが独特な機構を介して遺伝的多様性を高めていると推察された。本研究では、擬似有性生殖を介した人工的な Hybrid 菌株の作出法を確立し、菌糸融合、核の細胞間移行、核融合を観察した。得られた Hybrid 株の全ゲノム解析を行なったところ、染色体の倍加、組換え、サイズの異なる染色体の出現、ミトコンドリア DNA の組み換えなどの大規模なゲノム構成の変化が認められた。さらに *E. festucae* と *E. sylvatica* の組み合わせでも、異種間 Hybrid 菌株の単離に成功した。得られた Hybrid 菌株の染色体構成を調査したところ、異種間でもランダムなゲノムの再構築が起きていることが示唆された。以上の結果から *Epichloë* 属菌では擬似有性生殖によって遺伝的に多様な不完全菌が出現している可能性が示された。

土壌微生物に共通する腐植物質応答制御機構の解明

笠井 拓哉（名古屋大学未来材料・システム研究所システム、現 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門）

腐植物質とは動植物のフンや死骸が化学的かつ生物学的に分解と縮重合した物質であり、その中でも酸とアルカリに不溶な画分は固体腐植ヒューミン（以下ヒューミンと記載）と総称される。ヒューミンは電子伝達物質として有機塩素化合物の分解や脱窒など様々な微生物還元反応を促進するため、ヒューミンを活用した微生物浄化技術への応用が期待されているが、微生物のヒューミンへの応答機構は不明である。そこで本助成では、脱窒細菌 *Pseudomonas stutzeri* JCM20778 株をモデルとしたヒューミン応答機構の解明を目的にした。

初めに、*P. stutzeri* JCM20778 株の脱窒培養時におけるヒューミンへの遺伝子発現応答を RNA-seq を用いて解析した。その結果、脱窒系遺伝子の発現変動は見られなかった一方で、電子伝達系やバイオフィーム形成に関連した遺伝子の発現量がヒューミン存在時に上昇することが示された。これらの遺伝子の発現はヒューミンの酸化還元電位およびヒューミンに含まれる硫黄化合物に応答して複雑に制御されている可能性が示唆された。以上から、ヒューミンを利用する微生物は、ヒューミンの持つ煩雑な物性を認識し、細胞外電子伝達に重要な遺伝子の発現を制御していることが示された。

NADH 酸化能を失った非ミトコンドリア型呼吸鎖複合体 I の生理機能

井上 真男 (立命館大学立命館グローバル・イノベーション研究機構)

ミトコンドリアの呼吸鎖複合体 I は NADH の酸化を介して中央代謝系と電子伝達系を繋ぎ、呼吸の根幹を担う。呼吸鎖複合体 I は始原的な [NiFe] ヒドロゲナーゼから進化したと予想されているが、その進化の途上において微生物祖先がどのように呼吸を行っていたのか？については謎が多い。本研究では、NADH 酸化能を持たない非ミトコンドリア型の呼吸鎖複合体 I 様遺伝子群の存在に着目し、微生物祖先が有していたと推測される未知の呼吸機構を明らかにすることを試みた。まず、呼吸鎖複合体 I や [NiFe] ヒドロゲナーゼからなるタンパク質スーパーファミリーについてゲノム・メタゲノム情報を用いた大規模配列解析を行った。その結果、NiFe 活性中心を持たないヒドロゲナーゼ様酵素複合体や NADH 酸化モジュールを持たない呼吸鎖複合体 I が幅広い環境において多種多様な分類群のゲノムにコードされることを見出した。さらに、AlphaFold2 によるこれらの予測構造は呼吸酵素複合体としての特徴を示していた。そこで、これらの遺伝子群について複数のモデル微生物株を用いて遺伝学的な解析を行った。当日のポスター発表では以上の結果をまとめて報告したい。

出芽酵母前胞子膜の MCS 再編成を介した伸長の分子機構解明

舘川 宏之 (東京大学大学院農学生命科学研究科, 現 立教大学スポーツウエルネス学部)

真核生物の細胞内において、各オルガネラ膜や細胞膜は互いに近接してメンブレンコンタクトサイト (MCS) を形成し、脂質の直接的輸送を行うことが示されてきている。我々は、出芽酵母の胞子形成時に出現する新規膜構造である前胞子膜の形成過程において、MCS の再編成がおき、新たに小胞体と前胞子膜の間に MCS が形成されることを見出している。本研究では、MCS 再編成および MCS に依存した前胞子膜伸長の分子機構を明らかにすることを目指した。

前胞子膜上に局在する脂質輸送タンパク質 Vps13 に依存して、MCS 形成において働く tether タンパク質 (Scs2, 22, Tcb1,2,3,Ist2) が前胞子膜に局在することから、直接の相互作用が考えられた。Scs2 の認識配列 (FFAT モチーフ) が Vps13 に存在したため、変異を導入したが、胞子形成に影響しなかった。次に、Vps13 と tether タンパク質の相互作用を Two-hybrid 法により調べたが、特異的な相互作用は見られなかった。そこで、*vps13* 温度感受性胞子形成変異株を作製して解析し、マルチコピーサプレッサーの取得を試みたので報告する。

細菌セルロース分泌システムの完全再構成によるバイオフィーム形成機構の解析

奥田 傑 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

細菌は、バイオフィームを形成することで薬剤や様々な環境変化に耐性をもち、また除去することも困難となるため、医療や工業の現場では微生物汚染源として問題視されている。大腸菌において、バイオフィームの主要な成分であるセルロースの合成および分泌は、Bcs (Bacterial cellulose synthase) システムによって行われる。セルロース合成および内膜透過を担う BcsAB 複合体、外膜透過ポアを形成する BcsC を中心として構成されており、細胞質および内膜に局在する BcsE, F, G, Q, R, Z などの様々な因子が協働することでセルロースの修飾や合成、分泌がおこなわれている。本研究では、Bcs システムによるバイオフィーム形成機構を解明することを目的とし、詳細な機能が明らかになっていない BcsE と BcsF に着目し解析を進めた。大腸菌で発現させた BcsE および BcsF を精製し、*in vitro* での解析を行なったところ、これらの因子間に弱い相互作用が観察され、生体内で条件依存的に可逆的な複合体を形成する可能性が示唆された。

薬剤耐性に寄与するパーシスターの生理および誘導機構の解明

山口 良弘 (大阪公立大学大学院理学研究科)

細胞集団が致死的なストレスに曝されると、ほとんどの細胞が死滅する一方で、集団中の 0.1% 以下の細胞は可逆的な増殖停止状態に移行して長期間生き残る。パーシスターとよばれるこの生残細胞は、多剤薬剤耐性の一因として問題となっている。しかし、パーシスターの生理がそもそも不明なことに加え、パーシスターの数が少なく、効率よく誘導・分別する方法も存在しない。そこで、本課題では (1) パーシスターの生理の解明、(2) パーシスター誘導遺伝子を特定しパーシスターの高効率調製技術を確立することを目的とした。

初めに、既知のパーシスター因子でパーシスター細胞を誘導し、細胞内の mRNA、タンパク質および代謝産物を解析を試みた。しかし、これらの因子による誘導では十分な数のパーシスター細胞を誘導できず、解析を行うことができなかった。そこで、複数のパーシスター因子を共発現させ、パーシスター細胞を誘導した結果、単一のパーシスター因子よりも高効率にパーシスター細胞を誘導できた。よって、複数のパーシスター因子の共発現は高効率に休眠を誘導する手法として有効であることが示された。

植物病原菌 *Lasiodiplodia theobromae* におけるジャスモン酸生合成経路および生理機能の解明

佐藤 道大 (静岡県立大学薬学部)

ジャスモン酸は植物ホルモンの一つであるが、ある種の植物病原糸状菌はジャスモン酸類を生産することが知られている。しかし、なぜ糸状菌がジャスモン酸類を生産するのか、またどのように生合成しているのかは未解明のままである。これらの謎を明らかにすることを目的とし研究を進めた。

実験には、通常の研究室条件下での培養において大量のジャスモン酸類を生産することで知られる植物病原菌の *Lasiodiplodia theobromae* を用いた。植物におけるジャスモン酸類の生合成は、リノレン酸を出発物質として開始する。本菌においてもリノレン酸を出発物質とすることは示されているため、植物と同様の生合成経路を有すると考えた。そこで植物のジャスモン酸生合成酵素のホモログを本菌のゲノム中から探索したが、鍵反応を担う酵素のホモログは見出せなかった。そのためランダム変異を導入し、ジャスモン酸類生産に変化のある変異体を探索することにした。UV による変異導入を行い、約 300 株からジャスモン酸非生産株を単離することに成功した。現在、変異箇所から生合成に関与すると考えられる遺伝子の絞り込みを行っている。

グロムス亜門菌類が異なる形態のアーバスキュラー菌根を形成するメカニズムとその生理的意義の解明

上中 弘典 (鳥取大学農学部)

陸上植物の約 7 割と共生するグロムス亜門菌類は、植物の根で共生器官アーバスキュラー菌根 (AM) を形成する。AM は形態の違いからアラム型とパリス型に分類される。一般的に、植物の分類群に応じて AM の形態型に違いが生じる。しかしナス科のトマトでは、グロムス科の菌を接種するとアラム型 AM が、ギガスポラ科の菌を接種するとパリス型 AM が形成される。本研究では、同じ植物で異なる AM を形成できるトマトを用いて、グロムス亜門菌類が異なる形態の AM を形成するメカニズムとその生理的意義の解明を試みた。トマトとマメ科のミヤコグサを用いて RNA-seq による比較トランスクリプトーム解析を行った結果、AM の形態型に応じてギガスポラ科の菌の遺伝子発現プロファイルが変化した。また光量を変えてトマトの接種実験を行った結果、通常条件以上の光量で、グロムス科の菌と比べてギガスポラ科の菌の接種により生育が促進された。以上より、グロムス亜門菌類は AM の形成に関わっているのではなく、形成された AM の形態に応じた反応を行っていると考えられる。また、パリス型 AM を形成することで共生における栄養交換レベルが高まると示唆される。

分裂酵母における細胞間コミュニケーションを介した寿命決定機構の解明

山崎 晴丈 (新潟薬科大学応用生命科学部)

発酵生産の観点からは、微生物の増殖期よりも定常期の発酵力が重要である場合があり、経時寿命（栄養源枯渇により分裂停止した状態での生存期間）の長さは物質生産性とも密接に関係すると考えられるが、経時寿命の延長機構は未解明な部分が多い。我々は分裂酵母の経時寿命の延長機構の解明を目指しており、野生型株 (WT) よりも長寿命な変異株 KK268 を見出し、また KK268 の長寿命の原因が *mot1*⁺ や *asr1*⁺ 遺伝子の変異であることも明らかにしてきた。KK268 の培養上清で WT を培養すると WT の経時寿命が延長することから、KK268 が細胞外に分泌する寿命延長分子が細胞間の情報伝達を通じて自身あるいは WT の細胞の寿命を延長させると考えられた。そこで本研究ではメタボローム解析等によって *mot1*⁺ 変異導入により分泌される寿命延長分子を見出し、それらの添加で WT の寿命が延長することを明らかにした。また全 RNA-seq 解析を行ない *mot1*⁺ 変異導入により寿命延長に関与する可能性のある候補遺伝子を見出した。さらに見出した候補遺伝子を容易に迅速に機能欠失させるための CRISPR-Cas9 系の改変も行ったので報告する。

新規立体構造に基づく大腸菌 S2P 膜内切断プロテアーゼの切断制御機構の解明と薬剤スクリーニング系の開発

檜作 洋平 (京都大学医生物学研究所)

膜内切断プロテアーゼは、ヒトから細菌まであらゆる生物に保存され、生体膜内の膜貫通タンパク質を切断することで多様な細胞プロセスを制御する。大腸菌の膜内切断プロテアーゼである RseP は、基質切断を介して外環境変化に応じた遺伝子発現制御や、生体膜の品質管理に関与する必須の酵素である。本研究では細菌感染症の予防・治療へと繋がる RseP 特異的阻害剤の開発基盤の構築を目指し、以下の研究を行った。まず、大腸菌を含む細菌 RseP ホモログとペプチド性阻害剤 batimastat (BAT) との複合体構造を決定し、それに基づく修飾実験や架橋実験等の生化学的解析から、RseP が膜中にゲート構造を持ち、その構造変化を介して基質取り込みと切断を制御することを明らかにした。さらに阻害剤感受性解析により、阻害剤 BAT 及び基質膜タンパク質との結合様式を明らかにした。また、低分子膜タンパク質 (SMPs) を対象とした RseP の基質スクリーニングにより、14 種の SMPs を新規基質として同定した。そのうち細胞の休眠 (パーシスター化) に関わる内在性トキシンである HokB を RseP が分解することでその細胞毒性を抑制することを示した。

酵母において空間的制御を受ける発酵経路酵素による解糖系調節機構の解明

野村 亘（京都大学大学院農学研究科，現 信州大学学術研究院（農学系））

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のピルビン酸デカルボキシラーゼ（PDC）は、ピルビン酸をアセトアルデヒドへと脱炭酸する発酵経路の初発反応を触媒する酵素である。一般に解糖系の酵素群は細胞質に局在するのに対して、意外なことに、主要な PDC である Pdc1 は主に核内に観察される。また、我々は Pdc1 欠損株が解糖系阻害活性を有する 2-デオキシグルコース（2-DG）に対して高い感受性を示すことを見出した。本研究では、Pdc1 の核局在化機構に関する知見の獲得を目的とした解析を実施し、Pdc1 の C 末端領域が核局在に重要であることを明らかにした。一方、Pdc1 の核局在性は 2-DG による影響を受けなかったものの、窒素源枯渇条件下において核局在が減少し、細胞質局在が増加することを見出した。また、Pdc1 欠損株の 2-DG 感受性を抑圧するマルチコピーサプレッサーの探索を試み、最終的に転写因子や核酸代謝などに関連する 5 つの抑圧遺伝子を同定した。本発表では Pdc1 の脱炭酸反応以外の機能の可能性についても議論したい。

遺伝子の発現抑制最適化による高収率物質生産技術の開発

山田 亮祐（大阪公立大学大学院工学研究科）

石油資源の枯渇や種々の環境問題を背景に、微生物を用いた持続可能な有用物質生産技術の確立が求められている。微生物の有用物質生産性の向上には、副産物の生成に寄与する酵素遺伝子の破壊や発現抑制等の方法が有効である。本研究では、RNA 干渉（RNAi）とグローバル代謝工学（GME）を融合し、同時に複数の酵素遺伝子の発現を抑制して最適化する新規技術（iGME）を開発し、酵母による β -カロテン生産性の向上を目指した。

iGME により、 β -カロテンの生産における副産物の生成に寄与する 10 種類の遺伝子の発現を、単独または同時に抑制したところ、 β -カロテン生産量はそれぞれ 17.7 mg/L および 21.9 mg/L となった。これは遺伝子発現を抑制していない親株（13.1 mg/L）と比較してそれぞれ 1.3 倍および 1.7 倍の値であった。

本研究では、iGME を開発し、酵母による β -カロテン生産性を向上させることに成功した。iGME は、遺伝子配列の情報のみで、必須遺伝子を含むどのような酵素遺伝子でも発現の抑制が可能であるため、酵母における様々な有用物質の生産性向上に応用可能な技術であると考えられる。

植物関連放線菌が生産する二次代謝産物の解析よびその作用

中島 琢自 (早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構)

植物の根中から *Streptomyces* 属以外の希少放線菌が多く分離される。その植物内生放線菌が生産する二次代謝産物が、植物内で果たす役割を明らかにすることを目的とした。キンギン草の根から分離した放線菌 *Polymorphospora rubra* K10-0510 株が生産するトレハンジェリン (THG) を用いてダイズの生育に与える影響を調べた。ダイズ初期成長に対して、THG を添加することで莖および根の伸長活性が確認できた。ダイズに含まれるイソフラボン (ISO) を分析した結果、初生葉が観察される頃 (発芽後 7 日目) に IOS 量、特にマルニルグルコシド (MG-ISO) 類が急激に上昇することがわかった。THG 添加群は濃度依存的に MG-ISO 量を低下させた。一方、クロロフィル (Chll) 代謝物を濃度依存的に増加された。大豆中では IOS 配糖体として存在するが、根粒形成のシグナル分子として働くためには、イソフラボングルコシダーゼ (ICHG) によりアグリコンに変換され、根圏へ ISO を供給する。THG は植物内の MG-ISO 量を減少させることから、根から活性体であるアグリコンの分泌を促進している可能性が示唆された。また、Chll 代謝物量の上昇からダイズの成長を促進していることが示唆された。今後、ポットや圃場実験で、THG のダイズに対する成長促進効果を検証する。

ビックデータを活用した生物活性天然物の生合成経路の推定と実験的検証

南 篤志 (北海道大学大学院理学研究院)

インドールアルカロイド (IA) は、インドール骨格とイソプレン骨格が連結した天然物の総称である。イソプレン部を構成する炭素数や環構造、インドール環上での修飾様式などの違いにより構造多様性が構築されている。申請者らは IA 生合成研究を牽引しており、これまでに、5つの生合成遺伝子の同定と機能解析を報告してきた (*JACS* 2013, *ACIE* 2015 他)。その生合成遺伝子を比較すると、必ず存在する遺伝子 (A 群)、複数の類縁体で共通する遺伝子 (B 群)、特定の類縁体にしか存在しない遺伝子 (C 群) に分類できることがわかる。加えて、B 群遺伝子は生合成中期、C 群遺伝子は生合成後期に関与することを実験的に立証している。以上の知見から、「IA の生合成遺伝子クラスター (BGC) に存在する遺伝子の保存性を網羅的に比較すれば、対応する酵素が作用する順番 (= 生合成経路) を特定できるのではないか?」と考えた。そこで本研究課題では、提唱した仮説を立証するため、BGC が報告されている *nodulisporic acid* の生合成経路の推定と解明に取り組んだ。本ポスターでは、詳細について議論させていただく。

酵母由来再構成型生体外タンパク質合成系を利用した非天然アミノ酸導入システムの確立

富田 野乃 (東京大学大学院新領域創成科学研究科)

本研究では、申請者が開発した再構成型酵母翻訳系を発展させ、非天然アミノ酸(ncAA)を蛋白質に導入するシステムを確立する。全tRNAを試験管内転写tRNA(iVTtRNA)で再構成した翻訳系を利用して遺伝暗号を拡張し、多種類のncAAを蛋白質の複数箇所を導入できる系を目指した。

はじめにモデルタンパク質ナノルシフェラーゼに、幾つかの空コドンを紹介してD型アミノ酸やClickケミストリーアミノ酸を導入することに成功した。続いて、抗体医薬Antibody-Drug Conjugate(ADC)の開発を指向し、ラクダ科動物重鎖抗体由来抗原結合ドメインVHHにClickケミストリーアミノ酸を導入することとした。VHHのFR領域にTCO*LysやPoc*Kを導入すれば、Clickケミストリーにより抗ガン剤等の化合物を更に結合できる。BRETを利用したVHHの合成効率及び抗原結合能の高感度な評価システムを確立し、iVTtRNAで再構成した翻訳系により活性のあるVHHの合成に成功した。空コドンを紹介してVHHにTCO*KやPoc*Kを導入し、さらに蛍光化合物を結合する試みについても報告する予定である。

微生物によるリン酸セメントの生産技術開発

黒田 章夫 (広島大学大学院統合生命科学研究科)

(要旨) 微生物は、リン酸が複数つながったポリリン酸を作る。面白いことに、ポリリン酸を取り出してカルシウムを加えると、濃縮したコロイドゾルになり、接着性を示した。ポリリン酸カルシウムは、リンとカルシウムのみからなるため生体毒性は低く、さらにリン酸ジエステル結合の分解によってヒドロキシアパタイト($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$)に変化して、歯や骨そのものに置き換わる可能性のある新しい無機材料と考えられた(リン酸セメントと命名)。本研究では、リン酸セメントにおけるポリリン酸の鎖長の影響や接着力について検討した。短鎖ポリリン酸(鎖長10-30程度)、中鎖ポリリン酸(鎖長100-150程度)、長鎖ポリリン酸(鎖長700以上)のポリリン酸カルシウムの接着力を測定したところ、中鎖ポリリン酸カルシウムが最も強い接着性を示した。また、長鎖ポリリン酸カルシウムは延性があり、細長い繊維が作れることがわかった。ポリリン酸の繊維はリン酸セメントの補強剤として利用できること、並びに繊維を混合したリン酸セメントの人工骨に対する接着力は他の医療用接着剤より高い値を示すことがわかった。

農耕生態系における共生微生物叢の包括的把握と作物強靱化に関わる作用機序の解明

肥後 昌男（日本大学生物資源科学部）

農耕地では耕起によりアーバスキュラー菌根菌（AM 菌）などの菌糸ネットワークが崩壊することで、作物への生育促進効果が減少する。しかし、AM 菌以外にも土壤微生物が存在することから、土壤微生物叢全体の挙動が耕起体系下で栽培されるトウモロコシの強靱化にどのような影響を及ぼすか明らかでない。本研究では耕起処理の違いが AM 菌を含めた土壤微生物叢に及ぼす影響を網羅的に解析することを試みた。日本大学生物資源科学部附属農場（黒ボク土）にて、ロータリ耕、ボトムプラウ耕とディスク耕、不耕起でトウモロコシを栽培する試験区を設けた。トウモロコシ播種前の耕起処理後土壤と播種後 5 週目のトウモロコシの根圏を 2022, 2023 年に採取した。土壤、根内の細菌、真菌、AM 菌のアンプリコンシーケンス解析による微生物叢の網羅的解析を行った。本研究により、土壤と根内の細菌、真菌、AM 菌叢が耕起処理で異なることを提示できた。現在、バイオインフォマティクス解析の最適化等を行い、トウモロコシ生育の強靱化に関わる中核微生物群を解明するための重要な手掛かりの探索に取り組んでいる。

腸内細菌に対するヒトモノクローナル抗体の探索と抗原分子の解析

中野 秀雄（名古屋大学大学院生命農学研究科）

ウサギ糞便の腸内細菌叢を、rRNA の NGS 解析により調べ、さらに同糞便中から複数種類の腸内細菌を単離同定した。得られた腸内細菌のうち、ヒト腸内にも存在することが知られている *Bacteroides cellulosilyticus* を対象とし、それに結合する B 細胞をウサギの末梢血から複数単離し、各単一 B 細胞から抗体遺伝子を増幅、無細胞蛋白質合成系により Fab として合成し、結合活性を調べた。高い結合性を示したクローンを、*Brevibacillus choshinensis* により Fab として分泌発現し、培養上清より Ni アガロースとゲルろ過により精製した。得られた Fab 抗体は、多くの腸内細菌（グラム陰性とグラム陽性細菌）に結合活性を示した。しかし酵母や HEK 細胞にはほとんど結合しなかったことから、細菌の膜にグラム陰性細菌と陽性細菌共通に存在する分子に結合していることが予想された。またヒト不死化 B 細胞やヒト母乳由来 B 細胞から腸内細菌結合細胞を濃縮し、リボソームディスプレイによりヒト由来腸内細菌に結合する抗体の遺伝子候補を取得し、解析した。

多様化するカンジダ症原因菌の病原因子および抗真菌薬感受性と分子系統分類との関連性

永塚 由佳 (福山大学薬学部)

侵襲性カンジダ症は死亡率が高く、早急かつ適切な抗真菌薬投与を要する。一方で、病原性の報告がなく有効な抗真菌薬も由来も不明な *Candida* spp. がカンジダ症起因菌であり、治療が難渋する例がある。よって、新規病原性カンジダ菌を予め特定する方法、あるいは薬剤感受性不明の新規病原性カンジダ菌に有効な抗真菌薬を選択する新しい方法が切望される。

本研究では、千葉大学真菌医学研究センター・バイオリソース管理室に保存される臨床検体由来 *Candida* spp. 32 種 74 株を供試した。病原因子とされる菌体外酵素産生能や菌糸形成能は供試菌株に共通せず、分子系統分類との関連も不明であった。一方、35℃以上の生育能、微好気条件での生育能は全株で認められ、病原性カンジダ菌に必須の特徴である可能性を明らかにした。また、薬剤感受性と分子系統分類との関連を示した報告がないキャンディン系およびフロロピリミジン系を含む 4 系統 6 剤の抗真菌薬に対する感受性と分子系統分類との関連性を明らかにした。今後、特定の進化系統群について非病原性菌種を含め種網羅的な更なる検討を行い、「帰属する進化系統群に基づいた抗真菌薬治療法の開発」に繋げたい。

リン酸化ネットワークを介したワックスエステル発酵制御機構の解明

石川 孝博 (島根大学生物資源科学部)

微細藻類ユーグレナ (*Euglena gracilis*) は、嫌気状態を感知するとワックスエステル発酵により、貯蔵多糖パラミロン (β -1,3-グルカン) からミリスチルミリスチン酸 (C28) を主成分とするワックスエステルを生産する。本研究では、この代謝制御に関わる新奇タンパク質キナーゼ (Wax ester Synthesis Regulation Kinase; WSRK) の特性を明らかにするとともに、ゲノム編集により作出した WSRK 遺伝子破壊ユーグレナ細胞を用いたリン酸化プロテオーム解析を実施した。組換え体 WSRK を用いたキナーゼ活性評価の結果、WSRK は自己リン酸化により活性抑制されることが示された。リン酸化プロテオーム解析の結果、WSRK の下流において、ワックスエステル代謝関連酵素の一部がリン酸化制御の影響を受けることが示唆された。現在ワックスエステル代謝関連酵素活性への影響について検証を進めており、報告会では WSRK を介した嫌気応答時のワックスエステル発酵調節機構について議論したい。

宿主環境に最適化された抗菌治療薬探索法の確立

浜本 洋（帝京大学医真菌研究センター，現 山形大学医学部）

私達が同定した新規抗生物質ライソシン E は，宿主の血清中の特定成分によって抗菌活性が上昇し，治療効果を発揮していることを見出した．本研究では，この知見に着想を得て，ライソシン E のような宿主環境下でより高い抗菌活性を発揮する化合物を探索する手法の確立を目指して，以下の研究を行った．既知抗菌薬に対する，生体成分による抗菌薬の活性に対する影響を検討した結果，グリコリポペプチド系やマクロライド系の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性の亢進が，血清の添加により認められた．さらに，ライソシン E を含む lipid II 結合性抗菌薬の抗菌活性が，胆汁及び肺サーファクタントの添加によって上昇した．また，アミドグリコシド系が胆汁の添加によって抗菌活性が上昇した．これらは，特定の種類の抗菌化合物群が，生体成分に応答することを網羅的に明らかにした初めての成果である．さらに，ライソシン E の抗菌活性を上昇させる肺サーファクタント中の成分はホスファチジルエタノールアミンであった．これらは，微生物が生産する抗生物質と生体成分の相互作用を明らかにしただけでなく，新規抗菌薬の開発，及び，抗菌薬の適正使用にも繋がる重要な知見である．

合成生物学的手法による液体燃料の自在合成基盤の確立

湯澤 賢（慶應義塾大学先端生命科学研究所）

二酸化炭素の削減を目的として近年ガソリン車販売禁止の流れが欧米だけではなくアジアにも広がっており電気自動車が注目されている．一方で，高額な購入価格，地域の充電ステーション不足，長距離移動に向かないなど電気自動車の課題も多い．そこで本研究では，ガソリンを化石燃料ではなく二酸化炭素から生産する戦略により上記課題の根本的な解決を目指す．具体的には，植物バイオマスを半人工微生物によってガソリンに変換し，カーボンニュートラルな液体燃料を製造する手法を確立する．過去の研究では植物バイオマスをガソリン代替物である 2-メチル-3-ペンタノンに変換する *Streptomyces albidoflavus* の開発に成功した．一方で社会実装には現在の約 10 倍の生産量を達成する必要がある．本研究では，新たな *S. albidoflavus* を 3 種類，プロモーターを 2 種類用いて従来株のさらなる機能改変を試みた．その結果，従来株より約 25% 生産能が高い株の構築に成功した．一方で目標の生産効率には遠く及ばず、研究方法を大きく変更する必要があると考えている．多数の株をスクリーニングできる実験系の導入を検討している．

穿孔貝の共生微生物の生存戦略

沖野 龍文 (北海道大学大学院地球環境科学研究院)

穿孔性の二枚貝であるフナクイムシ類は、流木・沈木に孔をあけて生息している。木の細胞壁成分であるリグノセルロースを共生細菌が分解することからバイオマス利用の観点で注目を浴びる一方、他の細菌に侵入されない生存戦略に興味をもった。北海道沿岸でフナクイムシ類を採集し、その鰓から共生細菌を単離・培養した。道内では初記録種を含む6種のフナクイムシ類から、セルロースを炭素源とする培地で培養した結果、多くの共生細菌を得られた。意外にも天然物化学研究が進んでいる *Teredinibacter turnerae* を単離できなかったが、*Alteromonas* sp. と同定された細菌を中心に化学的研究を進めた。得られた菌体および培養上清からカラムクロマトグラフィー、HPLC などにより単離した化合物の構造を NMR および MS によって決定した。既知の tartrolon D および teredinibactin 類に加えて、新規 teredinibactin 類縁体が単離された。天然物化学者に着目されている海洋無脊椎動物の共生細菌は培養困難であることが多いが、フナクイムシ類の共生細菌は培養により得られる新規二次代謝産物のソースとして期待される。

病原性関連因子を分解代謝する微生物による植物病害防除

佐藤 育男 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

本研究では微生物農薬の開発に資する微生物(生物防除微生物)の機能解析および、病原菌-植物-生物防除微生物の三者間相互作用の解明を目的としている。2'-deoxyuridine (dU) はイネいもち病菌 *Pyricularia oryzae* が宿主植物体へ侵入する際の、自ら産生する感染促進物質であることが知られている。したがって、dU を分解する微生物はいもち病菌のイネでの発生の防除に役立つと考えられる。本研究では、イネ栽培環境より分離した dU 分解細菌 *Burkholderia* sp. HMS65 株から、dU 代謝酵素を部分精製し、その酵素化学的性質を解析した。本酵素は、dU に対する K_m 値は $0.52 \mu\text{M}$ であり、既知のヌクレオシド代謝酵素のそれに比べ 100 倍以上低く、dU 代謝に特化した酵素であることが示唆された。カバーガラス上のイネいもち病菌孢子懸濁液に精製酵素を添加すると、対照区に比べて付着器の形成率が低下した。また、イネの切断葉を用いた発症抑制試験では、精製酵素の処理区において、対照区より発病度が低下した。これより、本研究で得られた dU 代謝酵素および dU 分解微生物は、dU 分解代謝能によっていもち病の発病を抑制できることが示唆された。

好冷性放線菌のラッカーゼを用いた新規タンパク質架橋酵素の創出

時下 進一（東京薬科大学生命科学部）

酸化還元酵素ラッカーゼは架橋メデイエーター存在下でタンパク質中のチロシン残基に作用し、分子内や分子間の架橋を触媒できる。主に真菌ラッカーゼが用いられているが、近年、広範な pH と温度帯で作用する細菌ラッカーゼが着目されている。本研究では、*Cryobacterium* 属の好冷性放線菌の 2 種類のラッカーゼ遺伝子 (LacCR1, LacCR2) の異種発現と精製を行い、その酵素特性とタンパク質架橋酵素としての評価を行なった。LacCR1 の至適 pH は 4、至適温度は 30℃、LacCR2 の至適 pH は 4～5、至適温度は 70℃であった。LacCR2 は 5～20℃で最大活性の約半分の活性を維持していた。LacCR1 は架橋メデイエーターのフェルラ酸、LacCR2 はコーヒー酸存在下で卵白タンパク質中のオボトランスフェリンを架橋高分子化した。両ラッカーゼとフェルラ酸存在下の反応でのみジチロシンの形成が認められた。LacCR2 とフェルラ酸で処理した卵白を用いたゲルでは有意に破断応力と弾性率が向上し、ゲルの強度が上昇した。このように、好冷性放線菌のラッカーゼはタンパク質架橋酵素として機能し、LacCR2 に関しては食品タンパク質ゲルの物性を変化させることが示された。

高効率な嫌氣的ベンゼン分解を実現する最適微生物群の構築

鈴木 研志（東京大学大学院農学生命科学研究科）

ベンゼンは比較的水溶性が高く地下圏を広域汚染するため、物理化学的処理は高コストかつ高環境負荷であり、より効率的な浄化技術の確立が求められている。本研究では嫌気条件下で電子受容体を必要とせず、ベンゼンをメタンおよび二酸化炭素に変換する微生物群から、マイクロドロップレット (MD) 技術によりベンゼン分解に関与する微生物を単離し、最適化された微生物群を再構築することを目的とした。最も高いベンゼン分解活性を示す集積培養系を用いて MD を作成した。MD を嫌気条件下で安定に使用するため最終濃度が 0.5% となるようにアガロースを添加しゲル MD とした。ゲル MD には 2~10 細胞が包埋されるように培養液を希釈した。作成したゲル MD を嫌氣的に培養したところベンゼンの減少とメタンの生成が確認されたことから、本培養系に対してゲル MD による集積培養が有効であることが示された。SYBR green I で染色しゲル MD の分取を行った結果、微生物の増殖を示す光学的パラメータを持ったゲル MD の分取に成功した。その一方で、1 ずつ分注されたゲル MD からは顕著なベンゼン分解やメタン生成が確認できず、ゲル MD 間でも微生物間相互作用が存在しベンゼン分解が進行することが示唆された。

細菌スフィンゴ糖脂質の高度利用を目指した研究基盤の構築

沖野 望 (九州大学大学院農学研究院)

スフィンゴ糖脂質は真核生物に広く存在するセラミド骨格を有する一群の糖脂質であるが、一部の細菌もスフィンゴ糖脂質を合成する。細菌由来のスフィンゴ糖脂質は糖が α 結合でセラミドに結合するという特徴を持ち、ヒトやマウスのナチュラルキラーT (NKT) 細胞を活性化することから、その利用に注目が集まっている。本研究では、細菌スフィンゴ糖脂質の生産基盤を確立するために、細菌由来のスフィンゴ糖脂質合成酵素を真核微生物である出芽酵母やラビリンチュラ類で発現させた。その結果、細菌由来の α -ガラクトシルセラミド (α -GalCer) 合成酵素を発現させた出芽酵母やラビリンチュラ類において、宿主には存在しない α -GalCer 合成酵素の活性を検出すると共に、高速液体クロマトグラフ質量分析計によりヘキソシルセラミドが合成されていることを確認した。また、 α -GalCer 合成酵素を発現させた出芽酵母やラビリンチュラ類から抽出した脂質画分にNKT細胞ハイブリドーマの活性化能があることが分かった。これらの結果は、真核生物において初めて細菌型スフィンゴ糖脂質の生産に成功したことを示唆している。

複合微生物系プロセスの基盤制御技術の開発および理論構築

田代 幸寛 (九州大学大学院農学研究院)

近年、複合微生物による多様な基質消費能力を活用した発酵法（複合微生物系プロセス）の研究報告例が増加しているが、生成物の単一化や発酵の高効率化・制御化に関する知見の不足など課題も多い。本研究では、複合微生物プロセスにおける連続化および希釈率 (D) のおよぼす影響解明を目的として、研究を実施した。

3つのD変遷様式（一定法、アップ法、ダウン法）で、それぞれ $D=0.05, 0.15, 0.4 \text{ h}^{-1}$ で検討した。温度 50°C 、 $\text{pH}7.0$ で堆肥を種菌、炭素源をグルコースとして連続発酵を実施した。一定法では、優占細菌種はD値によって変化し、D値の増加に伴い、種数が減少した。全D値で乳酸が主生産物となり、D値の増加に伴い、高い乳酸選択性が得られた。アップ法でも、優占細菌種はD値によって変化したが、D値が増加しても種数は減少しなかった。主生産物は、 $D=0.05 \text{ h}^{-1}$ で乳酸、 $D=0.4 \text{ h}^{-1}$ では乳酸、酢酸、ギ酸となった。ダウン法では、D値に関わらず、種数は低い値で維持された。 $D = 0.05 \text{ h}^{-1}$ で酪酸が主に生産された。本研究により複合微生物プロセスにおける連続化プロセスの開発および希釈率の影響を明らかにした。

発酵経路に依存しない適応進化機構の解明と C 5 糖からの有用二次代謝物生産への応用

田中 勉 (神戸大学大学院工学研究科)

本研究では、微生物が利用しにくい C5 糖を原料とした有用物質の発酵生産系の開発を行った。分裂酵母 *S. pombe* を宿主として選択し、C 5 糖としてキシロースを資化する遺伝子を導入した。この株に対して適応進化を重ねることでキシロースを炭素源としてグルコースとほぼ同レベルまで増殖可能な改変株の作出に成功した。本株を用いて有用ポリケタイドの 1 つである三酢酸ラクトン (TAL) の生産を試みた。TAL は燃料添加剤、食品添加剤などの幅広い産業用途を持つ重要なプラットフォーム化合物である。この TAL はアセチル CoA およびマロニル CoA を前駆体とした代謝経路で合成される。上述のキシロース資化株にこの TAL 生産経路を導入し、20g/L キシロースから 4g/L の TAL 生産に成功した。エタノール発酵経路が強い酵母に対し、本研究では C5 糖からアセチル CoA を介した物質生産経路を構築することができた。現在、さまざまなオミックス解析をもとに本株の発酵経路に対する非依存性の解明を進めている。

大規模ゲノム再編成を用いる休眠型二次代謝産物生産法の開発

浅井 禎吾 (東北大学大学院薬学研究科)

ゲノム解読技術の飛躍的な進展は、未利用生合成遺伝子資源というポストゲノム時代の新たな天然物の探索資源を我々に提示した。これらは、新規天然物の宝庫として期待され、これまでに、様々な休眠遺伝子の覚醒法や強制発現法が試みられ、未利用生合成遺伝子資源から新しい天然物が発見されてきた。それでも、ゲノム解読で明らかにされた未利用生合成遺伝子資源の一部しか利用できていない。本研究では、制限酵素を鍵とする大規模ゲノム再編成技術「TAQing システム」を糸状菌に適応し、これまでにない革新的な未利用生合成遺伝子由来新規天然物の創製法を開発することを目的とした。

Aspergillus niger に *taqI* 遺伝子を導入した形質転換株を作製した。得られた形質転換株に対して種々の検討を行った結果、TaqI 発現株において、ゲノム再編成された株の作製に成功し、かつ、二次代謝プロファイルが野生株と比較して変化していることを確認した。本研究では、糸状菌で初めて制限酵素に誘導される大規模ゲノム再編成を引き起こすことに成功し、また、休眠遺伝子由来天然物の獲得の可能性を示唆する結果を得た。

植物地上部に棲息する非病原性真菌類の分類及び C1 酵母の分布と特性評価

白石 晃将 (京都大学大学院農学研究科)

メタンやメタノールなどの C1 化合物を単一の炭素・エネルギー源として利用できる C1 微生物は、自然界に広く生息し地球規模の炭素循環に寄与している。近年、植物細胞壁成分であるペクチンのメチルエステル基に由来するメタノールの存在などから C1 微生物が着目され、細菌を対象に研究が精力的に行われている。しかし、真核性葉面微生物に関する研究は病原性菌を除いて少なく、葉圏での生態も不明な点が多い。そこで本研究では、葉圏から C1 酵母を単離・同定し、生育特性と生物間相互作用を調べた。植物葉などを採取し集積培養を行った後、メタノールを含む寒天培地から 180 株の酵母を単離し、rDNA D1/D2 領域の配列などから 14 属 21 種に分類した。酵母の炭素源資化能を調べたところ、全てがペクチンを資化した一方、メタノールを資化したのは既知の C1 酵母 *Candida boidinii* のみであった。そこで、メタノールを単一炭素源として含むシリカゲル培地にて酵母を単離したところ、新たに取得した 41 株のうち約 8 割の菌株がメタノールを資化し、複数種の C1 酵母の同定にも成功した。また *In vitro* での解析から、様々なサンプルから単離された *C. boidinii* と他種酵母の間にはペクチン利用を介した相互作用があることがわかった。

要旨 (若手研究者助成)

データ駆動型ヒト腸内バクテリオファージ分離培養技術の開発

木口 悠也 (東京大学大学院新領域創成科学研究科)

ヒトマイクロバイームは、細菌染色体、ファージ、プラスミド、真菌染色体などの多様な遺伝要素から構成される生態系である。近年のメタゲノム技術の進歩により、各遺伝要素とヒトの健康との関連性が示されている。しかし、メタゲノム遺伝子の半数以上が機能的に未知であることから推測されるように、ヒトマイクロバイームには既存の知識では分類できない遺伝的要素が存在することが疑われる。本研究では、ロングリードシーケンス技術を応用して、ヒトの健康に関与する口腔内細菌叢の新規遺伝要素の同定を試みた。その結果、世界各国の口腔内に常在する新規遺伝要素を発見し、その平均蔓延率は40%に達する。この遺伝要素は最大ゲノムサイズ400kbの環状構造であり、自己複製構造やinsertion sequenceを持つといった特徴を共有している。我々はこの新しい遺伝要素を”Inocle”と呼んでいる。詳細なゲノム解析によってInocleはStreptococcusを宿主とする非常に新規性の高いバクテリオファージまたはプラスミドと推定された。また、Inocleの存在は本研究ではInocleを分離培養するために採用している戦略とその結果を共有する。分離培養の成功はInocleがヒトの健康にもたらす影響を解明する研究に発展すると考えられる。

若手研究者助成報告 … P-69

分離株とゲノム情報から紐解く Epsilonproteobacteria 綱細菌の分類体系

長谷川 万純 (国立研究開発法人海洋研究開発機構超先鋭研究開発部門)

Epsilonproteobacteria 綱(現 Campylobacterota 門)は、動物の共生体・病原体や熱水噴出孔・冷水湧昇域などの多様な環境からの分離株を含む。一方で、全く異なる環境であるマングローブ林においても、本門の16S rRNA配列が検出されているが、系統的位置や生理的特徴は分かっていない。本研究では、マングローブ林由来新規 Campylobacterota 門細菌の分離・分類・ゲノム比較解析により、本門の分類体系を整理することを目的とした。

2022年6月に、沖縄本島のマングローブ林にてサンプリングを行った。電子源として硫化水素・硫黄・水素を加えた各培地にて集積培養・単離操作を行ったが、本門細菌は得られなかった。そこで、前述の沖縄本島のサンプル、および2023年12月に西表島のマングローブ林にて取得したサンプルを対象にメタゲノム解析と細菌ゲノムの再構築を行ったところ、複数の本門細菌ゲノムの取得に成功した。系統解析により、取得したゲノムは陸上の泥火山や嫌氣的な有機物排水由来の本門細菌ゲノムと近縁であることを突き止めた。今後、得られたゲノムおよび近縁ゲノムの情報から培地条件を選定することにより、本門細菌の分離および生理学的特徴の解明を目指す。

ボタntaxケ目の新規昆虫病原性系統 "ハスノミウジムシタケ" の分類学的検討

山本 航平 (栃木県立博物館自然課)

ボタntaxケ目 (子囊菌門フタマカビ綱) は、生態的に多彩な 16 科の約 5000 種からなる。中でも、派生的系統である Clavicipitaceae, Cordycipitaceae, Ophiocordycipitaceae の 3 科には、冬虫夏草と称される昆虫病原菌 500 種以上が属す。これらには、医学上有用な物質の産生菌も多く、昆虫病原性や、有益な二次代謝産物合成の遺伝子基盤を解明すれば、今後の資源探索の進展が期待できる。しかし、冬虫夏草類と他のボタntaxケ目系統との間に位置する、中間的な特徴をもつ系統は未発見で、冬虫夏草類を特徴づける遺伝子基盤とその進化の背景はほとんど未解明である。

本研究では、主に菌寄生菌と腐生菌から構成されるボタntaxケ科で、唯一の例外であるハスノミウジムシタケ *Hypocrea dipterobia* の分類学的検討を行った。本種はハエ目幼虫に寄生し、子座柄の形態は冬虫夏草類に似るが、子座頭部はクッション型、子嚢胞子は楕円形で中央の隔壁で分裂し、ボタntaxケ属の特徴ももつため、暫定的にボタntaxケ属に分類されている。本種は冬虫夏草類とその他のボタntaxケ目系統のミッシングリンクである可能性があるが、1984 年の記載以降、研究例はない。本発表では、世界初の単離株を用いた RNA-seq を実施し、ファイロゲノミクス解析を行った結果を中心に報告する。

細胞性粘菌が持つ膜受容体タンパク質の構造解析を突破口として G タンパク質共役型受容体の起源に迫る

加藤 英明 (東京大学大学院総合文化研究科, 現 東京大学先端科学技術研究センター)

生命の維持には、細胞内外での情報のやり取りが必須であるが、これを主に担うのが膜受容体であり、ヒトにおいて最大のファミリーを形成している膜受容体が G タンパク質共役型受容体 (GPCR) である。ヒトは 800 種以上の GPCR を持っており、古くより基礎・創薬研究における重要な研究対象とされてきた。GPCR はあらゆる高等真核生物が有するタンパク質であるが、原核生物はこれを持っておらず、生物進化と GPCR 獲得の関係が注目を集めている。両者の関係を紐解くには、現存する最も原始的な GPCR である cAR1 を研究することが重要と考え、これに着目した。cAR1 は粘菌であるタマホコリカビが有する GPCR であり、細胞外 cAMP により活性化される。ヒトが持つ GPCR の 90% 以上がこの cAR1 から進化したと言われる一方、ヒト GPCR の活性化に必要なアミノ酸は cAR において保存されておらず、cAR1 がどのように cAMP によって活性化されるのか、またヒト GPCR が cAR1 からどのように変異を獲得して現在の形に至ったのか、といった点は未知である。本研究ではこの cAR1 の構造機能解析を目指して行った各種試みについて紹介する。

食の質的变化に依存した腸内環境変化が生体に及ぼす影響

宮本 潤基（東京農工大学大学院農学研究院）

近年の腸内細菌研究の発展に伴い、様々な病態と密接に関与することが科学的根拠に基づいて明らかにされている。腸内細菌は、遺伝的要因だけでなく、食事、薬物、運動やストレスなどの環境要因を通じて種類や構成が大きく変化することが明らかにされており、特に、食事は腸内細菌の構成変化を惹起する調節因子の一つとして良く知られている。しかしながら、様々な栄養環境や食事の質的な違いによる腸内細菌への影響、さらには宿主側の生体調節機能へ及ぼす影響については明らかにされていない。そこで、本研究では、食事の脂質画分を様々な食用油に置換することで、腸内細菌の構成変化に及ぼす影響と高脂肪食誘導性肥満モデルマウスへ及ぼす影響について検討した。その結果、様々な食用油の置換は、それぞれ異なる腸内細菌の構成変化を惹起することを見出した。さらに、特定の食用油の置換は腸内細菌依存的に糖代謝や生体エネルギー代謝調節に関与することを明らかにした。これらの研究成果は、腸内細菌を標的とした代謝性疾患の予防・治療を目的とした新たな機能性食品の開発や食事療法の発展に貢献することが期待される。

ガスや液体寒天がラボスケールの液内培養中の微生物に及ぼす影響の網羅的解析

高橋 将人（筑波大学生命環境系）

微生物由来の有用な二次代謝産物を探索する際、フラスコなど小規模なスケールで培養条件を複数設定することは重要である。本来、培養因子の組み合わせは無数にあるため培養条件の自由度は非常に高い。しかし、限定的な培養因子（培地組成、温度、時間など）の検討に依存しやすく、従来の培養法から脱却する術がない限り、新規な有用微生物を獲得できても、培養環境がボトルネックとなりアクセスできる生物資源が頭打ちになりうる。

生物資源として微生物の真価を引き出すガイドライン作成を最終目標に、本研究では、利便性を維持しながら、ラボスケールの液内培養に新たな培養因子（CO₂ や液体寒天）を付与し、その培養環境が微生物に及ぼす影響を解明し、新規培養法として特徴づけを試みた。好氣的に CO₂ 濃度を制御した *Streptomyces* 属（放線菌）の培養において、これまでとは異なる代謝（抗菌活性）を見出し、簡便にガス制御できるシステムを開発した。また、液体寒天を用いた海洋試料の集積培養では、約 30 種類の炭素源からこれまでとは異なる微生物群集構造を形成する基質を見出した。

ビフィズス菌における全てのオリゴ糖取込みを制御するグローバル ATPase：生理的意義の理解に向けて

阪中 幹祥（京都大学大学院生命科学研究科）

ビフィズス菌はヒトを含む様々な動物の腸内で棲息している。ビフィズス菌の腸内増殖は、本菌の幅広い種類のオリゴ糖の利用能に起因しており、事実、オリゴ糖取込みに関わる ATP 結合カセット（ABC）輸送体の構成因子（基質結合タンパク質と膜貫通タンパク質）のセットがゲノム上の至る所に遺伝子クラスターとしてコードされている。しかし、当該クラスターには、もう一つの ABC 輸送体構成因子である ATPase がコードされておらず、オリゴ糖取込みの機構は不明な部分が残されていた。このような状況の中、最近、我々は ABC 輸送体遺伝子クラスターとは全く別のゲノム領域に孤立してコードされている ATPase（以後、MsiK）が複数の ABC 輸送体に作用し、ビフィズス菌のオリゴ糖取込みをグローバルに支えている可能性を見出した。本研究では、更なる遺伝学・生理学的解析を行うことで、MsiK がビフィズス菌の増殖、他の細菌との競合および代謝物産生に寄与する事が示された。MsiK ホモログはほぼ全てのビフィズス菌種で保存されている事も明らかとなり、MsiK を介したグローバルなオリゴ糖取込みはビフィズス菌特有の戦略である事が示唆された。

放線菌が真菌の侵略を防ぐメカニズムの解明

永久保 利紀（筑波大学生命環境系）

土壌等の自然環境において、微生物は多様な種からなる複雑な生態系を築いている。土壌において普遍的に見出される放線菌（原核生物）は微生物間競争を通じて微生物生態系の形成に重要な役割を果たすと考えられているが、真菌（真核生物）と放線菌の間に発生する競争の仕組みはよく分かっていなかった。本研究課題では、放線菌 *Streptomyces lividans* が有するウイルス様粒子が放線菌コロニーに対する真菌の侵略を防ぐという現象に着目して研究を開始した。*S. lividans* のウイルス様粒子は細胞内タンパク質との相互作用を通じて本菌の高浸透圧ストレス耐性の向上等をもたらし、真菌と対峙する *S. lividans* の競争力に寄与することが示唆された。一方で、放線菌 *Streptomyces davawensis* が有するウイルス様粒子は、細胞外マトリクス形成を通じて *S. lividans* との複合コロニーの孢子形成能力を高めることが分かった。上記の発見は、放線菌群がかつてはウイルス（外敵）だったと思われるナノ粒子を取り込んで様々な形で利用することで真菌の侵略を防ぎつつ共同体として繁栄する、抜け目ない戦略の一端を示している。

ゲノム解析とメタボローム解析による腔内優性乳酸桿菌の生息に関わる代謝経路の解明

神谷 知憲 (大阪公立大学大学院医学研究科)

ヒト腔内は1種類の常在乳酸桿菌のみで構成され、分泌液中のグリコーゲンを乳酸に代謝し低pHを維持している。乳酸桿菌以外の菌が増してしまう細菌性膣症が早産の発症リスクを高めることから、常在乳酸桿菌は宿主と共生関係にあると言える。しかし、数ある乳酸桿菌の中で、なぜ特定4種のみが腔内で生息でき、優性であるのかは全くわかっていない。本研究では、腔内細菌のゲノム情報から、優性乳酸桿菌の特徴を見つけ出し、腔内に生息するための代謝経路の解明を目的とした。妊婦腔内容物から分離した36株からゲノムDNAを抽出し、ロングリードシーケンサーを用いて全ゲノム解析を実施した。シーケンスデータから環状ゲノムを作成し、ポリッシング後の配列を用いてクオリティー確認、及びアノテーションを行った。ゲノム情報を遺伝子群別に分類した結果、優性乳酸桿菌毎に特徴的なクラスターが認められた。最優性乳酸桿菌である *Lactobacillus crispatus* 群では、アスパラギン酸からリジン合成する代謝経路を特異的に保有していることが明らかとなった。

若手研究者助成報告 … P-77

典型的な DNA 修復因子が示す新規 RNA 結合活性の意義

白石 都 (大阪大学大学院基礎工学研究科, 現 九州大学大学院薬学研究院)

高温環境で生息する生物のゲノムには損傷が起きやすく、正確な遺伝情報の継承には効率的なDNA修復が必要であると考えられている。本研究では、80°C以上の環境に生息する超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* と *Pyrococcus furiosus* を対象に、これらのヌクレオチド除去修復因子XPBと相同組換え酵素RadAについて生化学的解析を行った。XPBとRadAはDNAに特異的な修復タンパク質と考えられてきたが、どちらもDNAと同等にRNAにも結合することが分かった。RNAに対する結合意義について理解を進めるため、共免疫沈降-LC-MS/MS解析により、XPBとRadAの相互作用候補因子を網羅的に同定した。続いて、検出されたタンパク質について、AlphaFold2を用いたin silicoプルダウン解析を行った。以上より、XPBとRadAに直接相互作用する可能性のあるタンパク質を絞った。相互作用する可能性が高い因子については、組換えタンパク質として調製し、ゲルろ過クロマトグラフィーによる相互作用解析を行った。本発表では、アーキアのXPBが関与する可能性のある経路と、XPBとRadAが相互作用する新しいタンパク質について議論する。

アーキアにおけるセレンタンパク質合成機構の解明

青野 陸 (立命館大学生命科学部)

セレノシステイン (Sec) 残基を含むセレンタンパク質は、全生物ドメインに存在し、重要な役割を担っている。Sec は UGA コドンに指定され、その挿入には mRNA 上の Sec 挿入配列 (SECIS) が必須となる。細菌では、Sec 挿入を担う翻訳伸長因子 SelB が SECIS を直接認識するのに対し、真核生物では SECIS 結合タンパク質 SBP2 を介して SECIS を認識して Sec を挿入する。一方、アーキアでは、SelB はその構造から SECIS を直接認識できないと予想され、また SBP2 ホモログが存在しない。以上より、アーキアにおいて Sec がどのように挿入されるかは不明であり、本研究ではその解明を試みた。

まず、組換え型 SelB と SECIS 領域を含む RNA を調製し、ゲルシフトアッセイを行ったところ、今回の条件では SelB の SECIS 特異的な結合は見られなかった。また、組換え型 SelB と細胞抽出液を用いてプルダウンアッセイを行ったところ、細胞抽出液中に SelB と相互作用するタンパク質が存在する可能性が示唆された。以上より、さらなる検討は必要ではあるが、アーキアにおいて SelB は SECIS を直接認識せず、何らかのタンパク質とともに Sec 挿入を担う可能性が示唆された。

大腸菌の酸耐性発現誘導メカニズムの解明による次世代型感染防除法の構築

神田 健 (筑波大学医学医療系)

大腸菌は、経口感染の過程で胃酸 (pH<2.5) に曝されるが、酸耐性機構を発現し生残する。特に、グルタミン酸脱炭酸酵素 GadA/B に依存した Gad システム、およびアルギニン脱炭酸酵素 AdiA に依存した Adi システムが強力である。本研究では、Gad システムの発現を制御する non-coding small RNA (sRNA) を探索し、*adiA* mRNA から生成する新規 sRNA “AdiZ” を見出した。AdiZ は、弱酸性 (pH 5.5) かつ嫌気性条件下で *adiA* mRNA の 3'UTR として転写され、RNase E により切断されることで生成する。*adiZ* のコード領域を破壊したところ、GadA/B レベルが増大し、さらに強酸性条件 (pH 2.5) における生存率が上昇した。レポーター解析により、AdiZ は、*gadA/B* のマスターレギュレーター GadE の転写を間接的に抑制している可能性が示唆された。以上より、AdiZ は、*adiA* が転写されると同時に Gad システムの発現を速やかに抑制する新規制御因子であり、本研究により、大腸菌が二つの主要な酸耐性機構を巧妙に使い分けている可能性が示唆された。

水田細菌叢形成メカニズムの解析

— 土壌理化学性改変による菌叢制御の試み —

鈴木 一輝 (新潟大学研究推進機構超域学術院, 現 新潟大学自然科学系)

水田においては土壌細菌群集がその地力の維持に重要な役割を果たしている。本研究では、水田細菌群集の制御を目指し、土壌特性の改変に伴う細菌叢の変化、およびイネ根共生細菌叢形成における土壌細菌群集組成の重要性を解析した。

まず、黒ボク土を基準とし、グライ土および灰色台地土中の腐植酸および活性アルミニウム含量を上昇させることで、湛水条件下での土壌細菌叢形成に及ぼす影響を解析した。その結果、腐植酸添加は一部の細菌群を刺激したものの、これらは黒ボク土様の細菌叢形成における主要因ではないと結論付けた。また、これらの土壌を粒度別に分解して培養したところ、粒度が小さくなるにつれて形成される細菌叢が単純化する傾向が観察された。

次に、イネ根の内生菌群集の供給源としての土壌細菌叢の重要性を検討した。イネ—土壌間の直接的な作用を可能な限り排した2層構造を有する水耕栽培ポットにて5種類の土壌を細菌供給源とした場合に形成されるイネ根内生菌を比較した。その結果、土壌中の細菌組成の違いがイネ根内生菌形成に大きく影響を及ぼしており、土壌細菌叢の制御はイネ根内生菌叢の制御に繋がる可能性が示された。

若手研究者助成報告 … P-81

地球全体に分布するロドプシン保有細菌の新たな光エネルギー獲得戦略

志甫谷 渉 (東京大学大学院理学系研究科生物学専攻)

地球上に存在するほぼ全ての生物は、太陽光由来のエネルギーを使うことで生命活動を行なっている。海洋や河川では光合成生物だけでなく、レチナール色素と結合した微生物型ロドプシンを用いて太陽光を化学エネルギーに変換する微生物も数多く存在する。つまり、水圏環境ではこれら2種類の光受容機構が生態系に光エネルギーを取り込む窓口になっている。本研究では、淡水湖および海洋に生息する微生物が、レチナール色素に加えてカロテノイド色素の一種であるゼアキササンチンやルテインといったキサントフィルを結合するロドプシンを持つことを発見した。さらに、これらの色素は受容した光エネルギーをレチナール色素に移動させる集光アンテナとして働くこと明らかにした。クライオ電子顕微鏡法を用いた構造解析によってこのロドプシンの構造を2.3 Å分解能で決定し、ゼアキササンチンの結合様式や選択性の構造基盤を明らかにした。配列解析の結果から、集光アンテナを持つロドプシンが水圏微生物に幅広く分布することが明らかになり、水圏生態系においてロドプシンは集光アンテナを駆使し、従来の試算を上回る量の光エネルギーを受容することが示唆された。

アーキアのゲノム安定性維持に関わる新規タンパク質の機能解明

尾木野 弘実 (岐阜大学工学部)

RecJ/Cdc45 は生物の 3 ドメインに幅広く保存されており，類似したアミノ酸配列を持つ．いずれの生物ドメインでもゲノムの安定性維持のために必要であると考えられているが，アーキアにおいて RecJ/Cdc45 と相互作用するタンパク質はほとんど知られていない．

本研究では，好熱性アーキア *Thermoplasma acidophilum* 由来の 2 種類の RecJ/Cdc45 ホモログと相互作用するタンパク質を酵母ツーハイブリッド法により網羅的に探索し，ゲノム安定性維持機構の解明を目指した．その結果，相同組換えや DNA 複製に関与する既知のタンパク質を含む 7 種類のタンパク質が有力な候補として同定された．特に，構造に類似性のある Rad50 および SMC の両方が実際に *in vitro* で RecJ/Cdc45 と相互作用した．Rad50 は相同組換え時の一本鎖 DNA 生成過程において，SMC は染色体の高次構造維持に関わると予想される．本発表では，同定された相互作用タンパク質の機能解析の結果と合わせて，アーキアのゲノム安定性維持機構について議論する．



要旨（研究室助成・中間報告）

若手研究室間協力による非モデル微細藻類の分子生物学的解析が紐解く 葉緑体誕生・進化の軌跡

(代表者, 共同研究者)

平川 泰久 (筑波大学生命環境系生物学域平川研究室)

小林 優介 (茨城大学大学院理工学研究科理学野小林研究室)

野村 真未 (山形大学理学部野村研究室)

[背景・目的]

研究：光合成によって二酸化炭素を吸収固定化する微細藻類は、水圏における重要な一次生産者である。彼らのもつ葉緑体は細胞内共生（原生生物が単細胞藻類を細胞内に取り込むイベント）により複雑に進化してきた。そのため、葉緑体で働く分子機構の多様性や普遍性を理解するためには、一つの藻類だけでなく、系統をまたぐ多彩な藻類での横断的な研究が必要である。

教育：低迷する博士課程への進学率は、大学の研究力低下や将来的な人材不足に繋がる大きな問題であり、地方大学においてはより深刻である。そこで、研究室間の積極的な交流をとおして、博士課程への進学意識の向上を目指す。

[方法]

3つの地方大学の若手教員が連携して、共同研究と共同教育を進めることで、葉緑体の進化の謎に迫るとともに、将来を担う人材育成を目指す。

[結果・考察]

研究：本発表では、進行中の3つの研究計画の中から「クロララクニオン藻のピレノイド構築メカニズム」に関する共同研究成果を報告する。藻類の多くは葉緑体内のピレノイドにルビスコ酵素と二酸化炭素を濃縮することで、効率的な炭素固定反応を行っている。しかし、ピレノイドで働く分子機構に関しては、ほとんどの藻類で未解明であった。本研究では、海産の単細胞藻類であるクロララクニオン藻のピレノイドで機能するタンパク質を明らかにした（平川分担）。さらに、ピレノイド構築に関与すると思われる天然変性タンパク質において、モデル緑藻クラミドモナスの異種発現系を用いた解析を行い、そのタンパク質の機能進化に関する考察を試みた（小林分担）。

教育：三研究室が連携して、オンラインでの合同セミナー、研究室訪問や実験技術講習会（茨城大）などを行った。大学をまたいで所属学生が交流する機会を設けることで、学生の進学意識の向上を図った。助成期間（2年間）での博士前期（修士）課程への進学者は8名、博士後期課程へは1名が進学している。

地方の特性を活かした微生物発酵によるバイオマスの循環型完全利用システムと教育・研究基盤の確立

(代表者, 共同研究者)

河井 重幸 (石川県立大学生物資源工学研究所環境生物工学研究室)

馬場 保徳 (石川県立大学生物資源工学研究所環境生物工学研究室)

森脇 真希 (富山大学学術研究部工学系生物反応工学研究室)

[背景・目的]

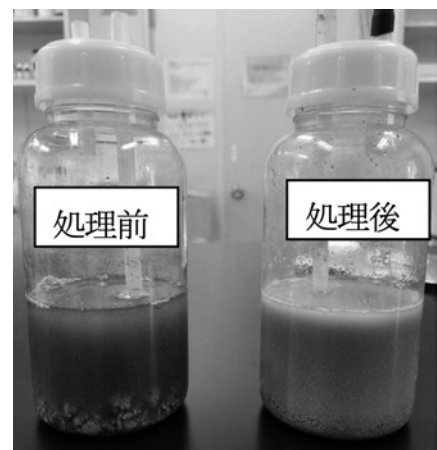
本研究の目的は、北陸地方の自然豊かな研究環境を活かした、微生物によるバイオマス（ペーパースラッジ、海藻、草木バイオマスなど）の有効利用研究を推し進めることである。教育面での目的は、石川県、富山県の生徒や大学生を対象にした出前講義およびセミナーを定期的に催し、地方の生徒や学生の微生物学に対する見識の底上げを図り、地方における微生物教育の基盤形成を行うことである。本報告では、研究に関してはペーパースラッジの牛ルーメン液を用いた有効利用研究の成果を紹介する。教育に関しては、ポスターにて主にサイエンスヒルズこまつ（小松市）、石川県立図書館（金沢市）、石川県産業展示館（金沢市）、富山大学（富山市）で実施したこれまでの実績を紹介する。

[方法]

ルーメン液 300ml とペーパースラッジ（乾燥重量 9.0g）を用いて、メタン発酵前処理を実施し、前処理におけるペーパースラッジの分解率と酵素活性（セルラーゼ及びキシラナーゼ）、pH、VFA、細菌叢の経時変化を調べた。細菌叢は 16S メタゲノム解析を実施するとともに、種特異的なプライマーを用いて、セルロースおよびヘミセルロースを利用する事が知られている種の消長もリアルタイム PCR で確かめた。また、前処理したペーパースラッジと対照として未処理のペーパースラッジを用いてバッチ式メタン発酵を行いメタン生産量を調べた。

[結果・考察]

ペーパースラッジを 192 時間前処理した結果（右下図）、セルロース及びヘミセルロースの分解率は前者が 64.7%、後者が 62.6% であった。pH が 1 日目から 2 日目にかけて大きく下がり、揮発性脂肪酸が生産された。この時、キシラナーゼ活性は増加するとともに、キシラナーゼ生産菌として知られる種（*Firmicutes* 門）の割合およびコピー数も同様に増加した。以上の結果をあわせて考察すると、本研究で検出された *Firmicutes* 門の細菌がペーパースラッジの可溶化をおこなう主な細菌であることが示唆された。また、このルーメン液による前処理の結果、対照区よりも 1.9 倍高いメタン生産量が得られた。



日本酒学を推進する醸造微生物の動態・関連因子に関する基盤的研究・教育

(代表者, 共同研究者)

平田 大 (新潟大学農学部醸造健康学研究室)

西田 郁久 (新潟大学日本酒学センター)

久米 一規 (広島大学大学院統合生命科学研究科健康長寿学研究室)

[背景・目的]

新潟大学では、日本酒に係る文化的・科学的な広範な領域を網羅する、世界初の学問分野「日本酒学 (Sakeology)」を立ち上げ、日本酒学に関する国際的研究・教育拠点の形成を目指している。新潟大学は、2017年、新潟県、県酒造組合、新潟大学の3者連携協定締結を源流として、2018年、新潟大学日本酒学センター (SCNU: Sakeology Center, Niigata University) を設立、その後、2020年、SCNUが全学共同教育研究組織となり、2021年、試験醸造免許を取得し本格的な活動を開始した。また、ワイン学と連携するため、ボルドー大学ブドウ・ワイン科学研究所 (ISVV) や米国 UC Davis 校 Robert Mondavi Institute と協定を締結し、研究・教育に関する国際交流を開始。さらに、日本酒学に関する大学院プログラムを2022年4月に開設した。本研究室構想では、SCNUに参画する中心的組織に加え、共同研究実施中の広島大学も参画、醸造微生物の研究・教育を核とする、日本酒学の国際的な研究・教育拠点の形成を目指している。具体的には、エタノール発酵に関わる醸造微生物の動態・関連因子に関する研究と教育を展開する。

[方 法]

(研究) エタノール発酵過程での細胞動態を解析し、同時に、エタノール発酵過程の醸造微生物の増殖と生存に必須な因子を探索・解析している。

(教育) 大学院 (日本酒学プログラム) での講義・実習を通して、醸造微生物教育を展開し、また、海外連携機関へ大学院生を短期間派遣する。

[結果・考察]

(研究・教育) エタノール発酵過程での酵母細胞の動態解析から、エタノール発酵が2つの phase に分かれることを見出し、複数の関連因子 (遺伝子) を探索・同定した。今後、本探索をさらに拡大し、関連因子 (遺伝子・代謝物) の解析を継続する。また、大学院での醸造微生物教育を展開し、若手研究者 (含: 大学院生) の海外派遣教育を継続する予定である。

持続可能な農林業を目指した微生物分子コミュニケーション教育研究拠点の形成

(代表者, 共同研究者)

諸星 知広 (宇都宮大学工学部基盤工学科生物工学研究室)

荷方 稔之 (宇都宮大学工学部基盤工学科生物工学研究室)

金野 尚武 (宇都宮大学農学部応用生命化学科生物高分子材料学研究室)

鈴木 智大 (宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センター生物分子情報学研究室)

[背景・目的]

持続可能な社会を構築するためには、林業と農業の調和が重要である。本研究グループでは、林業と農業を繋ぐ学問として、微生物分子コミュニケーションに着目した。微生物は化学物質を介して互いにコミュニケーションを取り合い、集団として様々な生命活動を行っている。農林業に関わる微生物による分子コミュニケーションが理解できれば、画期的な技術開発に繋がるものと期待できる。本研究では、未利用木材資源の有効活用に関わるバーク堆肥に着目し、バーク堆肥の利活用に伴う微生物分子コミュニケーションについて解析するとともに、大学院授業を活用した新しい教育提案についても紹介する。

[方 法]

本研究では、市販のバーク堆肥を複数入手し、実験に使用した。多くの植物病原細菌は、自身の病原性発現をシグナル物質 (AHL) を介した分子コミュニケーションにより制御する。そこで、バーク堆肥から単離した菌株の中から AHL の分解活性を有する菌株をスクリーニングし、菌種の同定を行った。次に、従来の方法では安定した栽培が難しいハタケシメジを対象とし、バーク堆肥を菌床とした栽培実験を行うとともに、菌床中の各種酵素活性の測定を行った。

[結果・考察]

7種類のバーク堆肥から単離した合計 84 株の AHL 分解活性を調べたところ、植物病原細菌が主に生産する短鎖 AHL を分解できる菌株が 11 株得られた。これらの菌種を同定したところ、*Neobacillus* 属や *Peribacillus* 属といった新規 AHL 分解細菌が多数存在していたことから、バーク堆肥の使用が植物病原細菌の分子コミュニケーションを阻害し、病原性阻害効果を有する可能性が示唆された。次に、ハタケシメジの栽培実験では、バーク堆肥を用いた菌床で栽培することで、菌糸の成長が安定することが明らかになった。さらに、ペクチナーゼや β -グルカナーゼ等の酵素活性も向上し、植物エリクター機能を有する分子コミュニケーション物質の生産が向上し、廃菌床が植物防御機能を有する可能性が示唆された。教育面では、大学院授業を利用して本研究メンバー全員で講義を行い、2年間で合計 141 名の履修学生に対して微生物分子コミュニケーションに関する研究例を解説し、当該研究分野の教育活動を行った。

東北日本海側地域の油田・ガス田における地下微生物生態系の解明とその環境・資源技術への展開

(代表者, 共同研究者)

宮田 直幸 (秋田県立大学生物資源科学部生物環境科学科生態工学研究室)

加来 伸夫 (山形大学農食料生命環境科食品応用生命科学コース応用微生物学研究室)

[背景・目的]

油田/ガス田地帯を擁する日本海沿岸地域において, 埋蔵資源を回収する新資源転換技術及び土壌・地下水汚染浄化技術は共通の地域課題である。よって秋田県立大学・山形大学の両研究室が連携し, 油ガス田の地下生命圏における嫌気微生物生態系を解明すると共に, 無酸素環境の有用微生物資源を開拓することを目的として, ①埋蔵原油の新エネルギー資源への変換技術, ②地下水環境の原油汚染浄化技術の確立を目指す。

[方 法]

国内の油田から堆積物・原油を採取し, 以下の実験に供した。

- 1) 原油分解に関与しうる複合微生物培養系の獲得: 各油田環境試料を用い, 嫌気性完全合成培地を用いた集積培養系を確立した。硝酸塩・水酸化鉄・硫酸塩を呼吸基質として添加した系や水素/二酸化炭素添加条件で培養を行い, 微生物の増殖が確認されたものは微生物群集構造解析を行った。
- 2) 微生物燃料電池による原油分解-メタン生成プロセスへの影響評価: 油田堆積物を用いた微生物燃料電池システムを構築することにより, 原油を分解しながら電気エネルギーの回収および温室効果ガス発生の制御が可能かどうかを検討した。

[結果・考察]

- 1) 原油分解に関与しうる複合微生物培養系の獲得: 硫酸塩還元条件および鉄還元条件の培養において, 石油系炭化水素成分の分解が確認できた。硫酸還元条件においては特定の細菌が微生物群集の7割を占め, 原油成分分解への寄与が示唆された。酢酸生成やメタン生成に関与する新規微生物を含む集積培養も複数得られており, 今後生理生化学的性質およびゲノム解析を行う。
- 2) 微生物燃料電池による原油分解-メタン生成プロセスへの影響評価: 油田堆積物を用いた微生物燃料電池を構築し, 発電および *Geobacter* 属細菌の電極表面への集積を確認した。電池の系内で生じるメタン量は電極設置系でより低減される傾向にあり, 微生物燃料電池によりメタン発生を抑制しながら土壌汚染を浄化できることが示唆された。

臨海3研究室と国際連携による共創的微生物研究者の育成とサーキュラー・マリンバイオエコノミー基盤の構築

(代表者, 共同研究者)

原 清敬 (静岡県立大学大学院食品栄養環境科学研究所環境工学研究室)

仲山 英樹 (長崎大学総合生産科学域 (環境科学系) 環境生物工学研究室)

岡崎 文美 (三重大学院生物資源学研究科水産物品質学教育研究分野研究室)

[背景・目的]

食品加工残渣や廃棄食品などの食品系バイオマスの再利用率は、バイオマスの中でも低く、近年は、食品ロスも世界的な問題となっている。また、バイオマスを利用する際に必要な大量の淡水資源も問題となっている。そこで、本研究では、未利用・廃棄食品系バイオマスと海水を原料に、好塩性微生物を用いて有用物質を生産することを目的としている。

[方法]

食品加工残渣である寒天製造残渣のアルカリ処理/酸中和物を原料に、生分解性プラスチック素材である PHB の生産に優れた菌株を 11 種類のハロモナスから選抜し、最適培養条件を求めた。また、独自に分離したハロモナスのグルタミン酸過剰生産変異株に GABA 生合成オペロンを導入することにより、GABA を生産するハロモナスを創製した。廃グリセロールや鶏糞の加水分解物を C/N 源とした M63 最小培地を調製した。さらに、海苔加工残渣を種々の条件でアルカリ熱水処理し、ハロモナス培養基材としての利用可能性を評価した。一方、海藻中の難消化性多糖類 β -1,3-キシランの分解酵素群を細胞表層に提示し、 β -1,3-キシラン資化性ハロモナスを創製した。

[結果・考察]

最適テングサ培地を用いて選抜株を培養すると、条件検討前の培地から細胞濃度が約 3 倍、培養液当たりの PHB 生産量が約 14 倍に増加し、テングサ由来の培地でも Marine Broth で培養した場合と同程度まで PHB を生産できた。また、本研究で作製した GABA 生産ハロモナスを使用し、7% NaCl を添加した高塩濃度培地において、塩析により粗精製した廃グリセリンや鶏糞のアルカリ加水分解物を C/N 源として用いることにより、GABA を生産できることが示された。一方、海苔加工残渣を NaOH 濃度 1 M で熱水処理した可溶性画分が、最も良好な生育を示した。最終到達 OD₆₀₀ は 2.5 に達し、培養基材としての有用性が示された。 β -1,3-キシラン分解酵素群のうち 2 酵素の酵素活性発現を確認した。

要旨 (寄付講座助成・中間報告)

多様な糸状菌類の固体気質認識ならびに侵襲メカニズム解明を基盤とする 糸状菌・環境インターフェイス工学の創生とその研究教育拠点の形成

河内 護之（京都大学大学院農学研究科糸状菌・環境インターフェイス工学講座）

[背景・目的]

糸状菌は分解者として地球規模の物質循環で中心的な役割を果たしており、固体を基質として侵入分解することを特徴とする。したがって、固体基質と菌糸表面において展開される生物反応こそが、糸状菌たる生き方を決定づける基本原理と言える。本寄附講座では、生態的、系統進化的に比較できる特徴的な菌種を用いて、糸状菌の環境・基質認識、基質定着および基質分解メカニズムを、生化学的、界面化学的、分子遺伝学的、比較ゲノム学的研究手法を駆使した多面的アプローチにより包括的に解析する。これにより、糸状菌の基質認識・侵襲メカニズムの多様性と共通性を抽出し、糸状菌の進化生態を総合的に理解する。

[方 法]

生態的・系統進化的背景が大きく異なる、子囊菌門に属する麴菌、トウモロコシごま葉枯病菌及び担子菌門に属するヒラタケをモデルに、基質と菌糸の界面で機能する疎水性分子、細胞壁及び分泌性多糖・タンパク質を探索し、それらの機能を遺伝学的、生化学的に解析した。

[結果・考察]

糸状菌の細胞表層に存在する細胞外マトリックス（ECM）は基質に対する接着性や病原性に関与すると考えられている。植物病原菌トウモロコシごま葉枯病菌においてECM内の多糖合成に関与する遺伝子に関し、昨年度までに同定した2種に加え新たに3種同定した。新規同定遺伝子中にはタンパク質の品質管理に関わるものが含まれ、多糖の合成に間接的に関与すると考えられた。細胞壁構造について、昨年度までに担子菌と子囊菌でその構造が大きく異なることを示唆していた。そこで、細胞壁合成遺伝子について担子菌と子囊菌間で進化系統学的解析を行った結果、 β グルカン合成酵素遺伝子 *fks* の保有数に差異が見られた。キチン合成酵素遺伝子 *chs* では、担子菌及び子囊菌にそれぞれ固有のものが存在することが示唆された。そこで、両遺伝子の生理機能がほぼ明らかとされていない担子菌についてヒラタケをモデルに解析した。ヒラタケに存在する *fks1* 及び *fks2* 遺伝子並びに担子菌特異的 *chs* 遺伝子 *chsbl-4* について遺伝子破壊株を作成し表現型を解析した。その結果、*fks* では2つの遺伝子間で、*chsbl-4* では系統ごとに細胞壁合成における役割が異なることが示唆された。

全ゲノム塩基配列に基づく酵母の高次分類体系の再構築および発酵・醸造に重要な酵母のタイピングに応用できる高解像度の実用的同定識別システムの確立と応用

高島 昌子（東京農業大学総合研究所酵母多様性生物学・分類学研究室）

[背景・目的]

ゲノム解析データの増加や解析技術の発展により、ゲノム情報を用いた高品質な基幹系統樹の作成が菌類においても進行している。並行して分類体系の更新を推進するには、ゲノム情報を従前の技術と融合させていくことが必要不可欠である。本研究は酵母の全体像を高次分類群から見た分類学的再構築と、種概念を軸とした酵母の分類法に資する新たな表現型の探索と確立を目的とする。

[方法・結果・考察]

「テーマ1：ゲノム情報を利用した酵母分類基盤の構築」

先端技術と従来の分類同定技術の融合のため、①ゲノム情報を用いた基幹系統樹作成において、新規に解読した Sporidiobolales 目の 31 菌株のゲノム情報を、解読済みのリファレンスゲノムと併せて系統解析を行い、ゲノムベースの系統推定を実施した。②種概念への貢献を視野に入れたゲノム情報を用いての種内多様性の解析においては、*Cutaneotrichosporon* 属とモデル酵母 *Saccharomyces* 属の比較ゲノム解析を行い、マーカー遺伝子配列、全ゲノム配列、ゲノム構造の多様性のバランスが大きく異なるという結果を得た。③ゲノムオルソログの「ある」「なし」マトリクスを用いた数値分類学的解析では、子嚢菌と担子菌間、およびそれらの各亜門間を特徴づけるオルソログを得ることができた。

「テーマ2：新しい分類方法の開発と検証」

担子菌酵母の多様な核相（核型、核数、核動態）に着目し、① Sporidiobolales 目酵母（33 種 54 株）と Trichosporonales 目酵母（28 種 33 株）の核動態を調べた。Sporidiobolales 目酵母の核分裂は従来の担子菌型なのに対し、Trichosporonales 目の 7 種の酵母の核分裂は従来型と異なっていた。Trichosporonales 目の根付近で遺伝的多型が生じたと推定される。また、菌糸形成機構に着眼して② *Trichosporon asahii* の菌糸生長に関わる因子を、Yeast nitrogen base から単離した。各栄養素を分割して加えて細胞を培養し、顕微鏡下で細胞長を測ることにより探索した。その結果、 $MgSO_4$ の添加によって菌糸が伸長することを見出した。同様の性質は菌糸型を有する 15 種の Trichosporonales 目酵母においても確認できた。また、*T. asahii* の遺伝子発現状況は、 $MgSO_4$ の添加によって大きく変化することを RNA-seq 実験によって明らかにした。本性質は、二形性酵母の新たな分類指標となることが期待される。

麹菌の家畜化に伴う遺伝的多様性の解析とその活用による高機能麹菌の育種基盤確立

楠本 憲一（大阪大学大学院工学研究科麹菌育種工学寄附講座）

[背景・目的]

近年の麹菌産業で望まれる高機能な菌株の取得のため、多様な麹菌類を家畜化の程度により分類し、同過程で不活性化したと考えられる原種の遺伝情報を解明して、その再活性化を含む高機能麹菌の育種研究が必要である。そこで麹菌及びその類縁菌（アフラトキシン産生菌など）を含めた菌株のゲノム構造の多様性などを活用して、麹菌の育種研究を深化し、伝統食品には見られない新たな原料を用いた発酵食品開発へと結びつける研究基盤を確立することを目的とする。

[方法・結果・考察]

野外で分離されたアフラトキシン（AF）非産生 *Aspergillus* 株のゲノム配列解析を実施し、AF 生合成遺伝子クラスター領域の塩基配列を基準配列（*A. flavus* NRRL3357, *A. oryzae* RIB40）と比較した。その結果、解析対象株の配列は *A. oryzae* により近い配列であり、対象とした野外由来株が AF 産生菌と系統的に離れた株であることが考えられた。また、Watarai ら（DNA Res., 2019）が提唱した *A. oryzae* のクレード分類（Clade A - H）に属さない菌株も存在した。

一方、種麹メーカーから分譲を受けた Clade B に属する KBN8048 株は、だし成分のイノシン酸分解を担う酸性ホスファターゼ *aphC* に変異があり、醸造工程でだし成分を維持したい場合に有効な菌株と考えられた。また、Clade B に属する株は硝酸塩のトランスポーター遺伝子 *crnA* が変異した株であった。上記のことから Clade B は特徴的な変異が蓄積した菌株の集団であり、*aphC* や *crnA* が Clade B への分岐の指標になると考えられる。

次に、土壌成分であるフミン酸、リグニン、前述化合物に含まれる金属塩に対する *A. oryzae* の応答を調べた結果、AF 関連クラスターの構造や Clade の種類により生育速度や胞子形成等の応答が異なる傾向が観察された。土壌成分応答の多様性を担う遺伝子候補を抽出するため、フミン酸添加により異なる生育応答をする RIB40 株と RIB143 株において、フミン酸添加の有無による遺伝子転写量変化を RNA-seq により解析した。その結果、フミン酸添加により生育が促進した RIB40 株のみで、添加により転写が上昇する遺伝子が複数抽出された。これらの遺伝子はフミン酸添加による *A. oryzae* の生育応答に関わる可能性が考えられる。

