

地球規模課題対応国際科学技術協力

(生物資源研究分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

生命科学研究及びバイオテクノロジー促進のための国際標準の微生物

資源センターの構築

(インドネシア)

平成 23 年度実施報告書

代表者：鈴木 健一郎

(独) 製品評価技術基盤機構 バイオテクノロジーセンター・参事官

<平成 22 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

インドネシアは熱帯に多くの島々を有し、その生物多様性は世界第2位といわれている。しかし、自然破壊が進み、希少な動植物の多様性の滅失への危機感が高まる中、生物多様性条約により自国の生物資源の管理は国家的戦略となっている。微生物においては、その豊富な資源を取得して保存し、活用をはかるメカニズムの構築は急務である。LIPI は、インドネシアの基礎科学研究の中核機関として、日本政府無償資金協力により生物学研究センターを建設し、植物学部門と動物学部門は、それぞれ国際的に高い知名度を得ており、残る微生物部門についても、本事業を通して国際的な研究センターとなることが期待されている。

本事業の目的は、インドネシアの微生物資源の多様性を利用して①健康、環境に有用な微生物を探索し、②生態、分類学的研究を行うとともに、③持続可能な農業への適用、④食品産業のための応用研究を実施し、⑤得られた微生物を LIPI 生物学研究センターで保存・管理し、⑥データベースを構築して⑦提供体制を整備することで、生物多様性条約 (CBD) の精神に則ったインドネシアの微生物資源を活用した研究の推進と専門家の育成、産業の振興に寄与することである。

平成 23 年度は、4つの研究課題「LIPI 微生物資源センター設立・運営のための資源管理」、「新規有用微生物の探索と生態学的研究」、「農業利用および環境・生態系保全に有用な微生物の分離と応用」、「家畜プロバイオティクスの分離・機能開発と応用」に分かれて、中核的微生物資源センターに必要な機材の設置、インドネシア産微生物の収集、現地環境調査、微生物データベースの基本構造について現地調査を行った。プロジェクト期間中ならびに終了後も持続的に機能する微生物資源センターの構築を念頭に、生物多様性条約 (CBD) の精神に則った微生物管理システムを構築した。次年度は、調査箇所を増やし、インドネシア産有用微生物の探索を行う予定である。得られた有用微生物をプロジェクトで構築する微生物資源センターに保存し、持続可能な利用のための体制作りも急ぐ予定である。中核的センターを目指し、キックオフシンポジウムの開催、年次報告会の開催、インドネシア国内の大学等の微生物管理者との交流会議の開催を通して、本事業の意義とインドネシア国内の微生物資源の保全と利用の重要性について広く啓蒙を行った。次年度は実技を伴うワークショップの開催を予定している。

2. 研究グループ別の実施内容

【研究題目1】 LIPI 微生物資源センター設立・運営のための資源管理 ((独) 製品評価技術基盤機構)

①研究のねらい

インドネシアに特徴的な有用微生物資源を LIPI 微生物資源センターにおいて高品質で保存・管理し、分譲を行う事業を整備する。保有微生物株のカタログデータベースを構築することによって、利用者に適切な情報を提供するとともに、インドネシアのコレクションネットワーク(FORKOMIKRO)の中核として、インドネシア国内のコレクションの微生物株に関する情報を統合し、インドネシア微生物インベントリーの基盤を作る。LIPI 微生物資源センターが、国際標準を満たし、インドネシアを代表する微生物資源センターとして機能し、インドネシア原産の微生物資源が国内外で活用されるように国家によって承認された資源管理体制を持つことを目標とする。

インドネシア国内をはじめ、東南アジア圏内を対象に、講習会や研究セミナーなどを開催し、微生物研究者や他の保存機関に対し、微生物の適切な取り扱いに関する啓蒙や指導を行うとともに、先進国の研究者とも連携してインドネシアの専門家育成の拠点となることを目指す。

②研究実施方法

微生物資源センターの活動に必要な設備・器具を整備する。ISO9001(品質管理システムの規格)の認証制度及び、OECDの生物資源センター(BRC)のベストプラクティスガイドラインなどを考慮し、微生物資源センターを国際標準の微生物資源センターとするための段階的改善計画を策定する。最新の微生物学の動向に従って、コレクションの運営方針、技術管理、微生物学研究とその技術プログラムを改良する。インドネシアの法令と規則を順守した微生物資源センターのマネジメントシステムを構築する。プロジェクトで実施された研究と文献情報に基づき、微生物資源センターに保存されている微生物株のデータベースを開発し、充実させる。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

A. 微生物資源の保存管理については、LIPIの担当者が来日し、NBRCでの業務のフローに関する研修を受け、それに基づき、LIPIにおける作業モデルを構築するとともに、各段階において必要な文書の素案を作成した。具体的には、新規微生物株の受入れのための微生物株寄託申込書(アクセションフォーム)と微生物株を受け入れる際の手順、保存標品作製と作製した標品の管理のためのフローと文書様式、分譲依頼書の様式と、その受付から微生物株の発送までの手順である。合わせて、ISO9001に基づく手順書の概要を研修した。

B. データベース構築については、(1)と合わせて、NBRCのデータベースにおけるデータの取り扱いの研修を行った。微生物株の登録と分譲、保存標品の在庫管理、顧客管理に関するデータの取り扱いを紹介した。NITEの情報管理の専門家がLIPIを訪問し、LIPIにおけるコンピューター、サーバーシステムの設備を見学するとともに、LIPI生物学研究センターにおける動物、植物の標本管理システムとその開発・維持体制について紹介を受けた。それらを現在担当しているLIPI生物学研究センターの情報担当チームに対し、NBRCの紹介を含む微生物資源センターの体制と業務に関するセミナーを行い、LIPIにおけるデータベース開発の体制と今後の計画について意見交換をおこなった。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

A. 微生物資源の保存管理については、微生物資源センターの業務のフローと管理すべき情報、それらを実施するための文書様式についてノウハウを移転した。また、ISO9001に基づく品質管理システムとその運営と手順書の作成について研修を行った。

B. データベース構築については、NBRCでデータベースの構成と操作法について研修を行った。また、インドネシアではNBRCの紹介を含む微生物資源センターの体制と業務に関するセミナーを行った。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

LIPIによる微生物保存施設の建築計画が、一時は悲観的であったが、再び急浮上し、2012年中に完成を目指すことになっている。これが実現すれば、プロジェクトで購入予定の機器類の設置や、他の課題にとっても研究の実施場所として大きな環境改善になる。この実現はプロジェクトの成果を大きく左右する。具体化した場合には設計施行にあたり、情報提供など、できるだけ支援を行いたい。

【研究題目2】 新規有用微生物の探索と生態学的研究 ((独) 製品評価技術基盤機構)

①研究のねらい

インドネシア固有の新規微生物が多数発見される。得られた微生物は、インドネシア産リファレンス株としてインドネシアの中核的保存機関となるべき LIPI 微生物資源センターに保存することによって、研究材料として国内外の研究者が利用できる環境が整備される。分類学的研究を通して、各種微生物の専門家を養成し、プロジェクトが終了した後も微生物資源センターの中心的存在となる。インドネシアの微生物の多様性が認知される。

②研究実施方法

糸状菌、酵母、放線菌、細菌、アーキア、バクテリオファージ、微細藻類に属する微生物を、インドネシアの様々な環境より分離し、分類・同定を行う。分離した微生物並びに研究に使用した微生物を、長期保存手法を用いて保存する。化学分類、分子系統分類、微生物保存法の検討、その他国際的な標準手法に基づく解析を行う。加えて、人間の生活の向上や、食品生産、農業、環境修復に有用な微生物を評価するための微生物の活性や機能の分析を行う。インドネシア側の微生物研究者に対し、微生物分類学の知識と技術の能力向上研修を行う。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

対象とする微生物の種類や取り扱い方法によって5つのチームを結成し、それぞれにインドネシア側と日本側にサブリーダーを設け、複数の研究テーマを設定した。年度の前半は予備調査を行い、後半は実際に現地にてインドネシア研究者とともに微生物採集を行った。予定より開始が遅れたものの、現地調査も順調に進み、5カ年計画の中の1年目の作業としては、目標としている2000株の登録(本プロジェクトで構築する国際標準の微生物資源センターへの登録)に対し、その候補株として多様な微生物を約790株分離しており順調に進んでいる。次年度以降さらに分離を行い、最終的に2000株を選抜し新たに構築する微生物資源センターに登録する予定である。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

現地に設置した機材、特に顕微鏡等のメンテナンス方法について指導し、今後の取り扱い方法とよりよい研究環境を維持するための研修を行った。

日本人研究者とともに微生物収集のための試料採集を行い、現地にて試料採集方法について指導した。その後インドネシアの研究室では、得られた試料より目的とする微生物の分離方法について、共同で実験を行い、植物内生菌の分離方法、脂質生産酵母の選抜方法、植物内生放線菌の分離方法、藻類の収集と純粋培養方法について技術移転を行った。

日本では、インドネシア研究者を招聘し、ファージの取り扱い方法と、培養・保存方法について技術移転を行った。

日本で開催された国際微生物連盟(IUMS)にインドネシア研究者とともに参加し、国内外の微生物研究者との交流を通して、新しい知識を習得し今後の研究に生かすことが期待される。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)

特になし。

【研究題目3】 農業利用および環境・生態系保全に有用な微生物の分離と応用(東京大学)

①研究のねらい

A. 農耕地の土壌圏の物質循環に着目し、インドネシアにおける農業生産や農耕地周辺の生態系保全に貢献する細菌の多様性を解明しつつ、環境負荷が小さい微生物肥料の開発、農耕地から発生する亜酸化窒素ガスの低減、農耕地周辺環境の硝酸汚染の低減等に利用可能な細菌資源を分離し、性状を解明する。

B. 熱帯樹木に共生する菌根菌の多様性や機能を調べ、熱帯林の再生や荒廃地の環境修復に利用可能な菌根菌を分離・収集する。

②研究実施方法

A. インドネシア農耕地(水田および畑)の土壌から、脱窒細菌および根粒細菌を分離・培養し、系統解析による簡易同定を行った後、研究題目1および2のメンバーの協力を得て分類・同定を行う。また、分離株の脱窒能や窒素固定能の測定を行う。さらに、アンモニア細菌やメタン酸化細菌の分離・培養も試みる。これらと平行して、インドネシア農耕地土壌における、脱窒、窒素固定、アンモニア酸化、メタン酸化に関わる機能遺伝子の存在量や多型性を解析する。

B. 熱帯雨林から樹木に共生する菌根菌を網羅的に収集・同定し、系統解析や多様性解析を行う。樹木への接種試験によって、有用な菌根菌株を選抜するとともに、成長促進効果機構を明らかにする。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

A. 研究材料の移転(インドネシアからの持ち出し)に関する議論に時間をかけたため、実験開始が遅れた。年度の後半に入り、相互訪問の機会を利用して共同で実験を開始することができた。これまでに水田土壌から土壌細菌分離株を得て、簡易同定の後、脱窒活性を測定した。今年度に計画されていた研究項目の一部(窒素固定細菌の分離)は来年度に開始することになった。

B. 当初の計画通り、スマトラ島の2ヶ所においてカウンターパートと現地調査を実施し、菌根菌の種組成や多様性について解析をすすめている。また、菌根菌の子実体から菌根菌の菌株分離も実施し、現在同定作業を進めている。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

A. カンターパートが来日した際、東京大学の設備を使用して、特異的PCRと変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法による多型性解析を共同で行った。また、インドネシア訪問時に、水田土壌のポット試験の様子を視察し、実験設定と測定項目について助言を行った。

B. カンターパートと現地調査を行い菌根菌の野外調査に関する技術指導を行った。また、菌根の識別やDNA抽出も現地のラボで共同で実施し、基礎的な研究技術の移転に務めた。PCRやシーケンスについては、カウンターパートの来日時に共同で実施して指導を行った。菌株の分離についても現地で共同で実施して技術指導を行った。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)特になし。

【研究題目4】 家畜プロバイオティクスの分離・機能開発と応用((独)理化学研究所)

①研究のねらい

インドネシアの畜産業の主要な家畜であるニワトリとウシに着目し、腸管内の微生物を分離しその生態系を明らかにすると同時に、プロバイオティクス機能を有すると思われる微生物株を取得する。得られた微生物株について、プロバイオティクスとしての有効性を評価し、養鶏産業及び家畜産業への適用を目指す。

②研究実施方法

インドネシアにおいてニワトリおよびウシルーメンから微生物の分離を中心に実験を行う。分離された微生物株については同定を進める。インドネシア側研究者が日本に滞在中は分離された微生物株について分類学的研究を行う。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

9月にインドネシア研究者が来日し、本研究課題に参加する研究者と体制を再度確認した。

2月に日本人研究者がインドネシアに行き、ニワトリ(ブロイラー12日齢、19日齢の2羽)、ウシルーメンおよびサイレージから嫌気性細菌および乳酸菌を分離した。培地はGAMおよびMRSを用いた。培養方法はニワトリについてはアネロカルト、ルーメンについてはロールチューブ法、サイレージについては混釈法を用いた。

ニワトリからは約200菌株、また、ルーメンおよびサイレージからも約50菌株の嫌気性細菌および乳酸菌を分離した。

分離した菌株については凍結保存を行い、16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析のためPCRによる遺伝子増幅を行った。凍結保存を行った全ての菌株についてシーケンス解析を行う予定である。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

嫌気性菌および乳酸菌の分離、培養、凍結保存について技術移転を行った。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)特になし。

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

- ① 本年度発表総数(国内 0件、国際 0件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0件、海外 0件)
- ③ 論文詳細情報

(2) 特許出願

- ① 本年度特許出願内訳(国内 0件、海外 0件、特許出願した発明数 0件)② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0件、海外 0件)

4. プロジェクト実施体制**(1) 「LIPI 微生物資源センター設立・運営のための資源管理」グループ【研究題目1】**

① 研究者グループリーダー名： 鈴木 健一郎 ((独) 製品評価技術基盤機構・参事官)

② 研究項目

- ・微生物資源センターの活動に必要な設備・器具を整備
- ・ISO9001(品質管理の規格)の認証制度及び、OECDの生物資源センター(BRC)のベストプラクティスガイドラインなどを考慮し、インドネシアの国内法令に準拠した微生物資源センターを国際標準の微生物資源センターとするための段階的改善計画を策定
- ・最新の微生物学の動向に従って、微生物資源の保存技術と品質管理法を発展
- ・インドネシアの法令と規則を順守した微生物資源センターのマネジメントシステムを構築(微生物株の保存及び分譲体制の構築)
- ・微生物株のデータベースの開発と充実

(2) 「新規有用微生物の探索と生態学的研究」グループ【研究題目2】

① 研究者グループリーダー名： 川崎 浩子 ((独) 製品評価技術基盤機構・主査)

② 研究項目

- ・糸状菌、酵母、放線菌、細菌、アーキア、バクテリオファージ、微細藻類に属する微生物を分離、同定
- ・研究に使用した微生物を長期保存手法を用いて保存
- ・化学分類学的解析、分子系統分類学的解析、微生物保存法の検討、その他国際的な標準手法に基づく解析
- ・人間の生活の向上や、食品生産、農業、環境修復に有用な微生物を評価するための微生物分析
- ・微生物研究者との共同作業により、微生物分類の能力向上研修

(3) 「農業利用および環境・生態系保全に有用な微生物の分離と応用」グループ【研究題目3】

① 研究者グループリーダー名： 大塚 重人 (東京大学・准教授)

② 研究項目

3-A: 土壌細菌

- ・農耕地生態系における窒素、炭素及びリンの循環に関与する細菌の分離を行い、分離株の系統解析を含む分類・同定
- ・分離細菌から農耕地生態系の窒素、炭素及びリンの循環や環境の保全に有用な菌株の選定と性状の解明
- ・農耕地生態系における窒素、炭素及びリンの循環や環境の保全に寄与する機能遺伝子の解析

3-B: 菌根菌

- ・熱帯雨林からの菌根菌の収集とそれらの系統解析並びに多様性解析
- ・樹木の成長に有用な菌根菌分離株の選抜
- ・菌根菌の樹木に対する成長促進効果の解析

(4)「家畜プロバイオティクスの分離・機能開発と応用」グループ【研究題目4】

①研究者グループリーダー名： 大熊 盛也 ((独)理化学研究所・室長)

②研究項目

4-A: 家禽(ニワトリ)

- ・家禽(ニワトリ)の腸内細菌の分離と同定
- ・家禽(ニワトリ)の腸内細菌から分離した菌株について、プロバイオティクスとして有用な株のスクリーニング
- ・選定したプロバイオティクスの家禽(ニワトリ)生産性に対する効果について検証
- ・家禽(ニワトリ)の腸内細菌の分子生態学的解析

4-B: 家畜(ウシ)

- ・家畜(ウシ)の第一胃内及びサイレージからの乳酸菌の分離と同定
- ・第一胃とサイレージから分離した菌株について、プロバイオティクスとして有用な株のスクリーニング
- ・選定されたプロバイオティクスの効果についてin vitroで検証
- ・家畜(ウシ)の第一胃の分子生態学的な解析

以上