

平成30年度研究拠点形成事業 (A. 先端拠点形成型) 実施計画書

1. 拠点機関

日本側拠点機関:	国立大学法人山口大学
タイ側拠点機関:	カセサート大学
ドイツ側拠点機関:	ベルリンボイト工科大学
ベトナム側拠点機関:	カントー大学
インドネシア側拠点機関:	ブラビジャヤ大学
ラオス側拠点機関:	ラオス国立大学

2. 研究交流課題名

(和文): バイオ新領域を拓く熱帯性環境微生物の国際研究拠点形成

(英文): Establishment of an international research core for new bio-research fields with microbes from tropical areas (World-class research hub of tropical microbial resources and their utilization)

研究交流課題に係るホームページ: <http://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~jsps/index>

3. 採択期間

平成26年4月1日 ~ 平成31年3月31日

(5 年度目)

4. 実施体制

日本側実施組織

拠点機関: 山口大学

実施組織代表者 (所属部局・職・氏名): 山口大学・学長・岡正朗

コーディネーター (所属部局・職・氏名): 創成科学研究科・教授・山田守

協力機関: 北海道大学、山形大学、東京大学、静岡大学、名古屋大学、岐阜大学、京都大学、京都工芸繊維大学、神戸大学、岡山大学、広島大学、島根大学、香川大学、愛媛大学、九州大学、鹿児島大学、琉球大学、大阪府立大学、富山県立大学、石川県立大学、大阪市立大学、明治大学、慶応義塾大学、近畿大学、関西学院大学、立命館大学、崇城大学

事務組織: 学術研究部研究推進課、学術研究部産学連携課、財務部財務課、財務部経理課、財務部契約課、農学部事務部、大学研究推進機構研究推進戦略部 URA 室

相手国側実施組織 (拠点機関名・協力機関名は、和英併記願います。)

(1) 国名：タイ

拠点機関：(英文) Kasetsart University

(和文) カセサート大学

コーディネーター (所属部局・職・氏名)：(英文)

Faculty of Science・Associate Professor・Gunjana THEERAGOOL

協力機関：(英文) Burapha University, Chiang Mai University, Chulalongkorn University, Khon Kaen University, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Mae Fah Luang University, Mahasarakham University, Maejo University, Mahidol University, Naresuan University, Phramongkutklo College of Medicine, Prince of Songlka University, Rajamangara University of Technology Tawan-ok, Rajamangara University of Technology Isan, Rambhai Barni Rajabhat University, Ramkhamhaeng University, Srinakharinwirot University, Suranaree University of Technology, Thammasat University, Thaksin University, Ubon Ratchathani University, University of Phayao, Walailak University, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, BIOTEC (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology), Science Society of Thailand under the Patronage of His Majesty the King

(和文) ブラパ大学、チェンマイ大学、チュラロンコン大学、コンケン大学、モンクット王技術大学ラドクラバング校、モンクット王工科大学トンブリ校、マエファーラン大学、マハサラカン大学、メイジョ大学、マヒドン大学、ナレスアン大学、フラモンクットクラオ医科大学、ソンクラ王子大学、ラジャマンガラ工科大学タウンオク、ラジャマンガラ工科大学イサン、ランパイパニ教育大学、ラムカンヘン大学、シーナカリンウィロット大学、スラナリー工科大学、タマサート大学、タクシン大学、ウボンラチャタニ大学、パヤオ大学、ワライラク大学、タイ科学技術研究所、バイオテック、タイ王立科学会

経費負担区分 (A型)：パターン2

(2) 国名：ドイツ

拠点機関：(英文) Beuth University of Applied Sciences

(和文) ベルリンボイト工科大学

コーディネーター (所属部局・職・氏名)：(英文)

Life Sciences and Technology・Professor・Peter GOETZ

協力機関：(英文) なし

(和文)

経費負担区分 (A型)：パターン2

(3) 国名：ベトナム

拠点機関：(英文) Can Tho University

(和文) カントー大学

コーディネーター (所属部局・職・氏名)：(英文)

Biotechnology R & D Institute・Associate Professor・Dung Thi Phuong NGO

協力機関：(英文) Ho Chi Minh City University of Technology, Tay Do University, Tan Tao University, Vietnam National University of Agriculture, Nguyen Tat Thanh University, Institute of Biotechnology of Vietnam Academy of Science and Technology

(和文) ホーチミン市技術大学、タイドー大学、タンタオ大学、ベトナム国家農業大学、ニュエンタツタン大学、科学技術ベトナムアカデミーバイオテクノロジー研究所

経費負担区分 (A型)：パターン2

(4) 国名：インドネシア

拠点機関：(英文) University of Brawijaya

(和文) ブラビジャヤ大学

コーディネーター (所属部局・職・氏名)：(英文)

Faculty of Agriculture・Professor・Anton MUHIBUDDIN

協力機関：(英文) Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Mataram University, University of Khaerum, University of Veteran Surabaya, University of Gadjah Mada, BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi: Agency for the assessment and Application of Technology), University of Indonesia
(和文) セプルフノペンベル工科大学、マタラム大学、ハイルン大学、ベテランスラバヤ大学、ガジャマダ大学、技術の評価と応用庁、インドネシア大学

経費負担区分 (A型)：パターン2

(5) 国名：ラオス

拠点機関：(英文) National University of Laos

(和文) ラオス国立大学

コーディネーター (所属部局・職・氏名)：(英文)

Faculty of Science・Associate Professor・Somchanh BOUNPHANMY

協力機関：(英文) なし

経費負担区分 (A型)：パターン2

5. 全期間を通じた研究交流目標

山口大学は、拠点大学交流事業（平成10-19年度）やアジア研究教育拠点事業（平成20-24年度）において熱帯性環境微生物資源（遺伝資源）に関する国際共同研究を実施

し、「耐熱性微生物」の潜在能力開発や次世代型省エネ「高温発酵技術」の基盤技術構築など多くの先導的研究成果を挙げてきた。本事業では、従来の日・タイの拠点大学に、欧州や ASEAN 諸国の 4 拠点大学と 1 協力大学を加え、ゲノム解析を主体とした基礎微生物学及び生態学研究から技術開発研究までに亘る、さらに若手研究者の実践的教育をも含めた、「熱帯性環境微生物」を対象とする世界水準の先端研究拠点を目指す。

「微生物資源の探索や利用」等の継続課題に加えて、「複合微生物」や「微生物-植物または微生物-動物」相互作用を利用する農業生産系や物質生産系への展開、さらにはエネルギー生産や環境保全に係る「バイオマス-微生物」相互作用などを、高速ゲノム解析技術等を駆使して展開する。このような熱帯性環境微生物の基礎から応用に亘る研究は、その「耐熱性微生物」の学術的位置付けや耐熱機構の解析、「高温発酵技術」の基礎研究や実証試験などを通じて、新たなバイオ研究開発領域を拓く先端的研究と位置づけられる。また、開発される技術は、エネルギー、環境、医療・衛生や食料等の問題解決に活用され、新規産業創成にも繋がるも期待される。同時に、若手研究者の育成や先端的解析技術の普及を進め、ASEAN 諸国の研究力の底上げと国際ネットワーク構築を推進する。本事業を、将来を見据えて発展させ、熱帯環境微生物資源の潜在能力について基礎・応用研究を世界に先駆けて推進する「熱帯性環境微生物の国際研究拠点」の形成を目指す。

6. 前年度までの研究交流活動による目標達成状況

本事業は、5つの研究課題に分けて実施している。なお、それぞれの課題は後述の各研究課題に記載しているように、複数の共同研究グループによる小研究課題によって構成される。そこで、研究課題ごとに、これまでの進捗状況を以下に要約する。

課題1では、12の小研究課題について活発な共同研究および研究者交流が実施されてきた。その成果は形となって表れており、本プログラムにおいて微生物の探索からスタートした研究が、分離微生物や生産物質の有用性の検証を経て、国際共著論文の公表に至ったケースも多くみられる。このようなことから、前年度までの研究交流活動の目標はほぼ達成できていると判断される。

課題2では、エタノール生産性の酵母・バクテリア (*Zymomonas*)、酢酸菌、アミノ酸生産性のコリネ型細菌、エタノール・CoQ10 生産性の分裂酵母など、いわゆる有用微生物における、耐熱性や耐熱化に関する研究をゲノムワイドに行った。これらの成果の一部は Top10% 補正論文 2 報を含む複数の論文として発表した。今後もこれまでに蓄積している多くの知見を有機的に結びつけ成果報告する。

課題3では、亜熱帯の環境に生息する微生物は温帯である国内で解析されている微生物とは異なる独自の機能を有していることから、それら微生物を用いた生態系の維持、環境浄化および環境修復、その微生物が産生する有用物質の様々な分野への応用が期待される。本課題では、幾つかの特徴的微生物、微生物の産生する物質、微生物と環境との相互作用の発見に成功している。ほぼ目標に沿って順調に成果が出ている。

課題4では、東南アジア諸国で新規機能を有する微生物を発見し、その生理活性を確定して応用に資する基盤を提供することにある。これまで、例えば耐熱性を有するグルカナーゼ、

グルコシダーゼを発見しオリゴ糖生産、新規生体認識機能を有する配糖体生産への基盤を確立、多機能性微生物を用いた循環型農業生産システムのパイロットテスト、農薬重金属汚染土壌のリメディエーション実証、ウキクサ成長促進細菌による工場排水浄化予備試験など、本格的な実用化直前までの技術確立が達成できている。これら以外にも生理活性の確定がほぼ終了し、実用化可能性の検証が始まりつつあり、30年度には更に複数の有望技術の提案が可能になると期待される。

課題5では、新産業創出を目指した次世代発酵技術としてのバイオリファイナリー関連の13の共同研究を実施しており、エネルギー生産ではパイロットスケール高温発酵試験や新しいダウンストリーム技術の開発、廃バイオマス前処理技術の開発が進められてきた。バイオリファイナリーではモデルコリネ菌で新規合成経路の開発に成功し、酵素利用技術では糖修飾酵素やプロテアーゼ、リパーゼの生産菌の獲得に成功し生産性の向上を図っている。

7. 平成30年度研究交流目標

<研究協力体制の構築>

本事業に関する研究協力体制やその運営や支援をするコーディネーター組織および組織委員会は初年度に構築され、最終年度もそれを踏襲する。各研究グループは担当する研究課題に沿って英語の年度計画書を協力して作成し、必要に応じて研究課題リーダーと相談しながら、本年度の共同研究を実施する。特に、世界的拠点形成に向けて本事業に加わったインドネシア、ドイツ、イギリスとの交流を強化するとともに、日本との交流に加えて日本以外の国間での交流を加速する。なお、マッチングファンドについて、インドネシアはブラビジャヤ大学に加えて平成29年度から政府機関の Ristikdikti からも支援が得られるようになったが、イギリスはこれまでと同様に予算獲得を試みる。

<学術的観点>

平成30年度は本事業の最終年度に当たることから、それぞれの小研究課題の目標を達成できるように遂行し、その成果を論文や学会発表として報告する。特に、それぞれの研究課題はいずれも世界をリードする先導的な研究内容を含んでいることから、それらの研究成果を公表し、新規な知見や新たな技術のシーズを提供し社会の発展に寄与する。たとえば、本事業の重要な柱「我が国に無い熱帯性環境微生物の開発・利活用」に関する「多様な熱帯性環境微生物の潜在能力の発掘と新規利用法の開発」、「熱帯性環境微生物の特性の1つである耐熱性原理の解明」、「食文化と腸内細菌叢」、「ウイルス伝播ルートの解明」、「耐熱性を利用した高温発酵等の次世代型バイオ燃料生産技術開発」、「発酵後のダウンストリームにおける膜分離等の技術開発」、「高温発酵のシミュレーションによる評価」などの研究成果を発信する。

平成30年度はメンバー全員が参加する最終ジョイントセミナーを山口大学で開催し、本事業成果の情報交換だけでなく次の拠点事業に向けて研究課題や研究協力体制等について意見交換や研究グループ内での研究テーマ等の相談を行う。また、例年と同様に NRCT

の支援を受けてタイ研究博覧会 2018 で分科会を開催する。さらに、ラオスで第 5 回サテライトセミナーと e-ASIA 共同研究会議 (JST, 2017-2019 ; 本事業経費外) を開催し、本事業の広報や本事業から生まれたシードを発展させ、高温発酵等の革新的技術開発に繋げる。

<若手研究者育成>

第 15 回若手研究者セミナーを山口市で開催する。本セミナーは日本人および留学生の大学院学生が中心となって企画・運営し、参加する全ての若手研究者が自身の研究成果等を英語で発表する。JASSO 短期留学生や私費で参加する若手研究者を含め、約半数が留学生や外国人研究者となる見込みであり、英語によるプレゼンテーション能力の向上、若手研究者育成に加えて友好関係の構築や国際ネットワーク形成に繋げる。また、日本側メンバーが、渡航中に特別セミナーや特別講義を実施するとともに、若手研究者の研究指導や博士課程学生の Co-Advisor 等を努める。

<その他 (社会貢献や独自の目的等) >

本事業では、熱帯性環境微生物の探索、環境適応機構、生態における役割ならびにそれを利用した有用物質生産や新技術開発を目指している。特に、我が国に無い熱帯性環境微生物資源の開発は、生物多様性条約の締結によってアクセスが困難になる中、本事業のような国際共同研究を通じて唯一継続できる。また、開発した微生物の寄託機関へ登録や研究成果の公表によって社会還元を行うとともに、若手研究者の育成に加えて相手国の研究力や技術力向上にも貢献し、友好関係を構築する。

8. 平成30年度研究交流計画状況

8-1 共同研究

整理番号	R-1	研究開始年度	平成26年度	研究終了年度	平成30年度
共同研究課題名	(和文) 有用微生物の探索研究 (英文) Explorational Research of Useful Microbes				
日本側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(和文) 伊藤真一・山口大学創成科学研究科・教授・1-5 (英文) Shinichi ITO・Yamaguchi University・Professor・1-5				
相手国側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(英文) Piamsook PONGSAWASDI・Chulalongkorn University・Professor・2-13 Peter GOETZ・Beuth University of Applied Sciences・Professor・3-1 Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Associate Professor・4-1 Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Professor・5-1 Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor・6-1				
30年度の 研究交流活動 計画	<p>本研究課題では、2つのサブ研究課題（有用微生物の検索、分離微生物および生産物質の研究）に分け、それぞれ7件および5件の共同研究（小研究課題）を実施する。これらの共同研究は、タイ・ドイツ・ベトナム・インドネシア・ラオスからの、2か国から6か国による共同研究12題という構成によって推進される。</p> <p>「有用微生物の検索」では、これまでの研究交流によって、バイオマス分解、エタノール生産、植物病害のバイオコントロール、あるいは生分解性プラスチック生産などに資する微生物（細菌、放線菌、および酵母）が多数分離されている。30年度は、これらの微生物の性状解析を進めるとともに、酵素の精製、生産物の構造解析、および関連する遺伝子の解析など、有用性の検証に関する研究をさらに進める。なお、小研究課題「耐熱性エタノール生産性細菌の探索とその解析」については、共同研究者の来年度の研究継続が難しいため研究を中止する。</p> <p>「分離微生物および生産物質の研究」では、昨年度に引き続き、細菌、酵母、糸状菌由来の有用酵素の遺伝子クローニングを行うとともに、耐熱性微生物が生産する物質の応用化を目指した研究を推し進める。</p> <p>本研究課題の今年度の交流として、日本の受入はタイ、ラオス、インドネシア、ベトナムから合計18名（各4日～60日）、日本からの派遣はタイ、ラオス、インドネシアへ合計5名（各4日～15日）を計画している。なお、進捗状況の共有は、各小課題を実施する共同研究者間において電子メール等により随時行われる。</p>				

	<p>1. Screening useful microorganisms (有用微生物の検索)</p> <p>1) バイオ燃料と有用物質生産のための熱帯性菌類の探索</p> <p>30年度は、これまでのタイとの共同研究で取得した酵母菌のバイオマス分解酵素群の遺伝子を同定する。相同性の高い領域でのPCRにより、いくつかのバンドが得られているので、それらをクローニングし、遺伝子配列を決定する。さらに、これらの遺伝子を出芽酵母に導入、発現させ、分解酵素を生産する。</p> <p>2) 有用なエタノール生産性酵母の探索とその解析</p> <p>これまでの共同研究によって、タイで確立された耐熱性酵母の分離方法を用いてラオス、ベトナム、インドネシアからそれぞれ100~200株の酵母を分離し、同定をすすめるとともに、さらに、耐熱性やエタノール生産性の優れた株を選別してきた。本事業の最終年度となる30年度は、選別された株の詳細な発酵特性を明らかにし、耐熱性に加えて種々のストレス耐性を強める育種をすすめる。また、セルロース系バイオマスに利用できる株の選別や育種等を行う。</p> <p>3) 熱帯地域由来微生物の有用酵素の探索と機能解析</p> <p>タイで新たに分離されたリパーゼを産生する酵母 <i>Saprochaete clavatum</i> 17B から、富山県立大学においてリパーゼを精製し、その部分配列からPCRを用いて遺伝子クローニングを行う。遺伝子発現についての検討は、タイのソククラ王子大学 (PSU) において行う。酵母の表層にリパーゼタンパク質を提示する遺伝子組換え酵母を造成する。</p> <p>4) 稲アラビノキシランを分解する微生物由来 β-キシロシダーゼと α-L-アラビノフラノシダーゼの同定</p> <p>タイは世界でも有数の米生産国であり、その生産量は年間1,875万トンに達するが、一次加工において稲ワラや籾殻などの廃棄系バイオマスが大量に発生する。アラビノキシランは稲ワラなどに含まれる主要な糖質成分の1つであり、その有効利用技術の開発は重要な課題である。我々はこれまでの研究交流において、耐熱性菌 <i>Streptomyces</i> sp. SWU10 株を単離し、本菌由来のエンドキシラナーゼ (3種)、β-1,3-キシロシダーゼ (1種)、α-L-アラビノフラノシダーゼ (1種) 遺伝子のクローン化と大量発現系の構築、および組換え酵素の反応特性解析を行ってきた。</p> <p>平成30年度はアラビノキシランの完全糖化を目的に、β-1,4-キシロオリゴ糖糖化活性を有する β-キシロシダーゼおよびダブル置換型アラビノキシラン側鎖遊離活性を有する α-L-アラビノフラノシダーゼの遺伝子を上</p>
--	---

記菌株よりクローン化し、それらの異種発現系の構築を行う。さらに得られる組換え酵素の性質を解析する。

5) 有用な微生物および酵素のスクリーニングと解析

- ・ 伝統的なタイの発酵食品から単離した乳酸菌の同定と利用

タイ国の伝統的な発酵食品より分離した乳酸菌の同定を、16S rRNA 遺伝子解析により行う。また、食品汚染の原因となる細菌に対する抗菌スペクトルを評価し、抗菌物質の性状解析を行う。

- ・ 微生物由来の耐熱性セルラーゼの性状解析

タイ国で単離されたセルロース分解性微生物から、セルラーゼをコードする遺伝子を取得する。組換え体を作製して発現させ、その性状解析を行うとともにバイオマス分解への応用を試みる。

6) ポリヒドロキシ酪酸 (PHB, PHBV) 生産菌の単離と解析

ポリヒドロキシ酪酸 (PHB, PHBV) は、生分解性プラスチックの原料として重要な物質である。また、微生物が生産することも知られ、多くの研究がある。本研究は、タイ土壌から耐熱性と高生産性を指標として、新規の高生産性菌のスクリーニングを目標として行う。これまで数種のポリヒドロキシ酪酸生産菌を取得している。30年度もスクリーニングを継続し、得られた微生物の生産する産物について、静岡大学にて NMR、FTIR、GPC カラムクロマトグラフィーを用いてその構造を解析する。また、生産性ならびに産物の特性が良好な生産菌のゲノム解析を静岡大学にて行う。

7) 熱帯作物の病害防除に利用可能な有用微生物の単離・同定

前年度までの Dr. Sunpapao (タイ、ソクラ王子大学) との共同研究によって分離した“熱帯作物の病原菌に対して拮抗作用を示す微生物”のうち、最もバイオコントロールに有望な菌株として選抜された *Streptomyces* 属菌および *Trichoderma* 属菌の微生物学的性状をさらに調べるとともに、アブラヤシおよびレタスの病害防除への応用について検討する。また、29年度から開始した Dr. Jantasuriyarat (タイ、カセサート大学) との共同研究「日本産イネ品種におけるインド・中国型いもち病抵抗性遺伝子の分布」を継続する。さらに、イネに対していもち病抵抗性を誘導する有用微生物の単離を試みる。

2. Study on isolated microorganisms and their products

(分離微生物及び生産物質の研究)

- 1) *Thermobifida alba* AHK119由来のクチナーゼ及びカルボキシルエステラーゼのポリエステル及びピレスロイド等農薬分解への応用

Thermobifida alba AHK119株よりクローン化したカルボキシルエステラーゼ (Ca119) が低分子基質のエステル結合分解能を有していることがこれまでの研究で判明した。本菌のクチナーゼがポリエステルを分解して生じる低分子基質をCa119が分解処理していると考えられ、本菌によるポリエステル分解機構の解明につながる。また、Ca119は農薬マラチオンの分解能力を有していることを基本的に確認したので、論文化の準備を進める。30年度は論文作成過程で生じるさらに必要な検討や他の農薬類への検討を行うとともに、酵素の固定化を試み、環境中の農薬分解や農産物の残存農薬処理への応用を試みる。固定化酵素は酵素の産業利用にも有用な技術と考えられる。河合の訪タイは論文化のための内容と必要なデータに関して打ち合わせを行うためである。

2) ①レバナナーゼに於ける加水分解生成物のサイズに関するアミノ酸残基の同定、②*Bacillus licheniformis* 様細菌の 23-37DP 長環状 1, 4 グルカン合成新規酵素の精製、③*Fusarium* sp. F59 の菌体内 α -グルコシダーゼの性質の解析、④担子菌由来遺伝子組換え N-型糖鎖遊離酵素の応用開発

B. amyloliquefaciens 由来のエキゾレバナナーゼの反応生成物の長さを規定するアミノ酸残基を特定し、特定したアミノ酸を改変し、レバンからフルクトオリゴ糖産生するエンド型酵素に機能変換を目指す。また、*Bacillus licheniformis* 様細菌の大環状シクロデキストリン合成酵素の反応生成物を HPAEC で検出し、同酵素活性を測定する。同酵素を含む画分について、MALDI-TOF-MS および SDS-PAGE を用いて同酵素タンパク質を特定する。特定したタンパク質の遺伝子データベースをもとに同酵素遺伝子をクローニングし、その高発現系を構築する。さらに、*Fusarium* sp. F59 の産生する菌体内 α -グルコシダーゼを、同菌体抽出液から MALDI-TOF-MS および SDS-PAGE を用いて同酵素タンパク質を特定する。あわせて、本酵素を精製し、その性質を明らかにする。一方、担子菌由来エンド- β -N-アセチルグルコサミニダーゼ FV および AB を用いて同タンパク質に結合する N-型糖鎖の構造分析への応用を検討する。また、N-型糖鎖を持つネオ配糖体の酵素合成への応用を検討する。

3) 耐熱性酵母 *Candida easanensis* JK-8 株の β -グルコシダーゼ遺伝子のクローニングと配列解析

タイで単離した耐熱性酵母 *Candida easanensis* JK-8 株の生産するアルコール耐性や糖耐性、耐酸性の高い β -グルコシダーゼの産業利用の観点から、ワインの香りの増強効果について 29 年度に検討した。ぶどう抽出物を用い本酵素の効果を検討したところ、ワインに存在する種々の香りのう

	<p>ちモノテルペンアルコール類を増強する可能性があることがわかった。ぶどうに含まれる香りの前駆体が本酵素で分解され、香り成分が遊離・増強されたものと思われる。この結果は、ワインの香り増強における有用性を示唆するものだが、全遺伝子配列決定の試みは一部配列が決定できず、<i>Pichia pastoris</i> のタンパク高発現系での発現に至らなかった。そこで、30年度は本株の全ゲノムの塩基配列を決定、本遺伝子をクローニングし、本酵素の大量発現を試みる。また、同様にタイで分離した別の株 (JK9/1 株) についても、生産する BGL の機能解析を行い、JK8 株由来の酵素との比較を行う。</p> <p>4) 金属高吸収性を示す耐熱性酵母の解析とその応用</p> <p>平成 29 年度は、耐熱性酵母において種々の金属についての感受性と発酵性への影響を検討した。また醸造酵母との比較のため特にマンガン (Mn) に対する耐性変異株のスクリーニングを行ったが、目的とする変異体得られなかった。しかしながら、醸造酵母では関連遺伝子の候補が見出された。そこで平成 30 年度は変異体獲得に向けてさらにスクリーニング進めるとともに、非耐性株に対しても金属ストレス応答や金属吸収能を解析し、関連する遺伝子の同定を目指す醸造酵母との差異を比較解析する。</p> <p>5) 微生物の生産する生理活性物質の探索</p> <p>応募者が保有する 110 種類の耐熱性放線菌について、それぞれを 3 種類の培地で通常培養 (30°C) 培養と高温 (45°C) 培養を行う。それぞれの耐熱性放線菌から調製した n-BuOH 抽出液を LC-MS によって生成物を比較して、45°C 培養 n-BuOH 抽出物でのみ生産が確認される化合物について、その分子量及び UV スペクトルをデータベース化する。また、ある程度の生産量を示す化合物についてはライブラリー化する。生産量の高い Heat Shock Metabolite (HSM) については構造解析を行う。一方で、上記で調製した n-BuOH 抽出液をスクリーニングソースとし、応募者らが有する 10 種類の疾患モデル細胞系でのアッセイ系を用いて生理活性物質のスクリーニングを行う。45°C 培養液にのみ活性が見られた n-BuOH 抽出液から活性本体を単離、精製および構造解析を行う。</p>
<p>30年度の 研究交流活動 から得られる ことが期待さ れる成果</p>	<p>1. Screening useful microorganisms (有用微生物の検索)</p> <p>1) バイオ燃料と有用物質生産のための熱帯性菌類の探索</p> <p>バイオマス分解酵素は、新たに取得した菌類に数多く存在している結果が出ている。これらは新しい性質を持つ酵素であることが期待され、バイオマス分解酵素として取得できれば、酵素利用分野、食品分野、エネルギー</p>

	<p>一分野に応用できる。</p> <p>2) 有用なエタノール生産性酵母の探索とその解析 高温発酵は、冷却コストの削減、冷却装置の簡易化、雑菌混入の抑制などが見込まれ、次世代の省エネ技術として期待されているが、高温で発酵能の高い耐熱性株が不可欠である。本共同研究では、生物多様性条約等の制約からそれぞれの国で耐熱性株の分離を進めている。また、育種によってより安定な発酵ができる株を見出す。これによって、それぞれの国において利用できるデンプン系ならびにセルロース系のバイオマス利用に適した酵母を獲得できる。</p> <p>3) 熱帯地域由来微生物の有用酵素の探索と機能解析 植物油脂成分を原料とし、リパーゼを用いてバイオディーゼルを製造する方法の開発が期待できる。</p> <p>4) 稲アラビノキシランを分解する微生物由来 β-キシロシダーゼと α-L-アラビノフラノシダーゼの同定 上記エンド-キシラナーゼでキシランを分解した場合には主要産物としてキシロオリゴ糖が蓄積する。一方、稲ワラ中に含まれるキシランは部分的に α-L-アラビノース側鎖で修飾されたアラビノキシランとして存在しており、さらにそれらのアラビノース側鎖にはシングル置換型とダブル置換型がある。前年度の研究によりシングル置換側鎖を遊離させるα-L-アラビノフラノシダーゼを獲得したが、本酵素だけでは全ての側鎖を遊離させることはできない。30年度に実施予定のβ-1,4-キシロシダーゼおよびダブル置換遊離可能な α-L-アラビノフラノシダーゼを獲得することができれば、アラビノキシランの完全分解が達成できる。</p> <p>5) 有用な微生物および酵素のスクリーニングと解析 ・伝統的なタイの発酵食品から単離した乳酸菌の同定と利用 より安全な食品製造法や保存法が開発される。 ・微生物由来の耐熱性セルラーゼの性状解析 耐熱性の高い酵素の取得と効率的なバイオマス利用法が開発される。</p> <p>6) ポリヒドロキシ酪酸 (PHB, PHBV) 生産菌の単離と解析 微生物の耐熱性は、他の微生物の混入を防ぐという観点から、産業利用のうえで有用な性質である。熱帯に近いタイでは、耐熱性を持つ新規のポリヒドロキシ酪酸 (PHB, PHBV) の取得が期待でき、既に数種類の取得に</p>
--	---

成功している。しかし、これまで得られている生産菌の生産能は、以前に報告されている菌と比較して同等のものが多く、更なるスクリーニングにより、高生産性菌の取得が期待できる。また、ゲノム解析により得られる情報は、菌株の機能の詳細を理解でき、産業応用に有用な情報となると期待できる。

7) 熱帯作物の病害防除に利用可能な有用微生物の単離・同定

Dr. Sunpapao (タイ) との共同研究については、アブラヤシおよびレタスの病害の原因菌 (*Curvularia oryzae* および *C. lunata*) に対して強い拮抗作用を示した *Streptomyces* 属菌および *Trichoderma* 属の生物学的性状および病害防除への応用に関する新知見を共著論文として国際誌に投稿することが期待できる。また、Dr. Jantasuriyarat (タイ) との共同研究については、日本産イネにおけるインド・中国型いもち病抵抗性遺伝子の分布に関する知見を得ることが期待できる。さらに、イネに対していもち病抵抗性を誘導する有用微生物の単離が期待できる。

2. Study on isolated microorganisms and their products

(分離微生物及び生産物質の研究)

1) *Thermobifida alba* AHK119由来のクチナーゼ及びカルボキシルエステラーゼのポリエステル及びピレスロイド等農薬分解への応用

マラチオンはタイではなお、大量に使用されている農薬の一種であり、環境残存性が高く、公衆衛生上からも問題視される。Ca119はマラチオンに対する高い分解能を示したので、本酵素による残存農薬の処理が期待される。そのためには酵素の固定化が実用化に近づける一つの方法である。固定化には酵素の安定化という側面も期待される。Ca119のクローニングと基本的な諸性質、および固定化酵素とその応用については、それぞれ論文として公表するためのデータが揃うことが期待できる。

2) ①レバナーゼに於ける加水分解生成物のサイズに関するアミノ酸残基の同定

② *Bacillus licheniformis* 様細菌の 23-37DP 長環状 1, 4 グルカン合成新規酵素の精製

③ *Fusarium* sp. F59 の菌体内 α -グルコシダーゼの性質の解析

④担子菌由来遺伝子組換え N-型糖鎖遊離酵素の応用開発

*B. amyloliquefaciens*由来のエキゾレバナーゼのアミノ酸改変によってレバンから様々な長さのオリゴレバンの生産が可能となり、食品や化粧品あるいは家畜飼料へ添加し、高機能化を期待できる。また、*Bacillus licheniformis*様細菌の産生する大環状シクロデキストリン合成酵素の特異

	<p>性および遺伝子発現系を構築することによって同酵素を用いた大環状シクロデキストリンの生産とその産業利用が可能となる。さらに、<i>Fusarium</i> sp. F59の産生する菌体内α-グルコシダーゼを利用した様々な配糖体の合成が可能となる。一方、担子菌の産生するエンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼFVおよびABを用いたヒト生体試料中の糖タンパク質糖鎖の酵素分析法が期待出来る。また、N-型糖鎖を持つ新規生体認識機能を持つ配糖体合成が期待できる。</p> <p>3) 耐熱性酵母<i>Candida easanensis</i> JK-8株のβ-グルコシダーゼ遺伝子のクローニングと配列解析</p> <p>アルコール耐性や耐糖性、耐酸性が高いβ-グルコシダーゼは、植物性バイオマスを利用する上で重要な鍵酵素であるとともに、ワインの高品質化にも利用できる可能性が示された酵素である。本酵素の大量生産技術が確立できれば、セルラーゼとの相乗効果や高温発酵技術への応用、さらには酒類の高品質化技術につながることを期待される。</p> <p>4) 金属高吸収性を示す耐熱性酵母の解析とその応用</p> <p>タイ等の亜熱帯域における土壌・水質汚染金属のバイオリメディエーションへの応用や酵母の金属吸収機構の解明が期待されるだけでなく、醸造時の金属塩の影響を分子レベルで明らかにできる。</p> <p>5) 微生物の生産する生理活性物質の探索</p> <p>HSM の中にはユニークな構造や生理活性を有する放線菌二次代謝産物が存在すると考えられることから、HSM ライブラリーは新しい疾患治療シーズのスクリーニングソースとして期待できる。</p>
--	--

整理番号	R-2	研究開始年度	平成26年度	研究終了年度	平成30年度
研究課題名	(和文) ゲノム情報に基づく耐熱性微生物研究 (英文) Genome-based Research on Thermotolerant Microbes				
日本側代表者 氏名・所属・職	(和文) 薬師寿治・山口大学創成科学研究科・准教授・1-17 (英文) Toshiharu YAKUSHI・Yamaguchi University・Associate Professor・1-17				
相手国側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(英文) Pornthap THANONKEO・Khon Kaen University・Associate Professor・2-47 Peter GOETZ・Beuth University of Applied Sciences・Professor・3-1 Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Associate Professor・4-1 Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Professor・5-1 Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor・				

	6-1
30年度の 研究交流活動 計画	<p>本研究課題では、エタノール生産性の酵母・バクテリア (<i>Zymomonas</i>)、酢酸菌、アミノ酸生産性のコリネ型細菌、エタノール・CoQ10 生産性の分裂酵母など、いわゆる有用微生物における、耐熱性や耐熱化に関する研究をゲノムワイドに行うことを目標に、今年度、タイ・ドイツ・ベトナム・インドネシア・ラオスの研究者を含む2か国間から5か国間の7件の共同研究交流活動を計画している。ラオスの研究者が参加する別途の共同研究もあるが、別経費 (e-ASIA) のため、本研究交流活動計画として計上していない。今年度の交流は、日本からタイ・ラオスへの派遣が1ないし2名程度(10日間)、タイ・ドイツ・ベトナム・インドネシア・ラオスからの受入が5名(140日間程度)を計画している。ドイツの研究者はサテライト及びジョイントセミナーに参加し、共同研究者等と情報交換を行う予定である。一方、進捗状況の共有は電子メールでのやり取りにより各小課題において随時行われる。</p> <p>本研究課題において、以下の7件の共同研究交流活動(小研究課題)を計画している。本研究課題では、耐熱性・耐熱化やストレス耐性を中心とする表現型を観察し、そこに関わる遺伝学的背景をゲノム解析、ゲノム改変、変異導入、交配育種などの手法によって解析する。耐熱化や耐熱性に関与する遺伝子のリストから、これまでの知見を加えて耐熱性やストレス耐性獲得に至るストーリーを導き出す。総じて、最終となる本年度はこれまでに蓄積している知見を有機的に結びつけ成果報告していく年となる。</p> <p>研究計画としては、エタノール生産性の酵母・バクテリア (<i>Zymomonas</i>)、酢酸菌、アミノ酸生産性のコリネ型細菌、エタノール・CoQ10 生産性の分裂酵母など、いわゆる有用微生物における、耐熱性や耐熱化に関する研究をゲノムワイドに行う。巨大な情報量に対して、合理的な解釈や生物学的背景を動員する。ゲノムワイドな変動から個々の遺伝子やタンパク質の役割、低分子化合物の動きに至るまでを解析することによって、耐熱性微生物研究を進める。</p> <p>1) 耐熱性エタノール生産性酵母の分布調査とストレス耐性分子機構 これまでの4年間の共同研究から、耐熱性エタノール生産性酵母の分布調査については、課題1でタイ、ラオス、インドネシア、ベトナムのそれぞれの国で多くの酵母を分離・解析しており、最終年度にそれらをまとめる。一方、ストレス耐性に関しては、特に、耐熱性酵母 <i>Kluyveromyces marxianus</i> の耐熱性や糖代謝特性に焦点を当て、①高温培養開始直後に代謝切替えが起こっていること、②培養後半に酢酸蓄積がおこり酵母の生存に影響すること、③グルコース抑制について <i>Saccharomyces cerevisiae</i> と同様な分子機構をもっているが、異なる点があることなどを明らかにしてきた。最終年度では、それぞれの不足しているデータを得て、これらの</p>

	<p>研究結果を論文にすることを旨とする。</p> <p>2) 耐熱性エタノール生産性細菌の分布調査と高温適応の分子機構 高温高速発酵によるエタノール生産を可能にすることを旨とし、耐熱性エタノール生産性微生物 <i>Zymomonas mobilis</i> において、耐熱化実験により単離された菌株の耐熱化機構をさらに明らかにするため、変異を組み合わせた菌株の構築を試みる。前年度の研究において耐熱化に寄与する変異は明らかになっており、組み合わせによる耐熱性の向上も確認できていることから、組み合わせによりこれまでより高温で生育する <i>Zymomonas</i> 属細菌の創出に取り組む。合わせて、耐熱化の分子機構を明らかにするための生理学的・遺伝学的解析を試みる。</p> <p>3) 耐熱性酢酸菌による高温酢酸発酵系の開発 耐熱性酢酸菌による高温酢酸発酵系の開発を進めるとともに、その耐熱性機構の理解及び食酢の有効利用を促進するために、以下の6点に絞って研究を進める。①タイ・ベトナム・ラオス等の花・果実から新規な耐熱性酢酸菌をスクリーニングし、その分類学的および生理学的特性を明らかにする。②<i>Acetobacter</i> および <i>Komagataeibacter</i> 属酢酸菌の耐熱化育種を行い、高酸度・高温酢酸発酵系の開発を進める。③<i>Acetobacter pasteurianus</i> および <i>Komagataeibacter</i> sp. から得られた耐熱化株のゲノム解析に基づく耐熱化機構の解析を進める。④<i>A. pasteurianus</i> の耐熱化株を用いる高温発酵および非温度制御発酵での米酢発酵系の開発を国内とタイで進める。⑤酢酸菌の耐熱化育種を促進するために、酢酸菌を宿主とする異種発現系の開発を進める。⑥食酢及び調合酢によるハエ誘因効果についての検証を行う。</p> <p>4) 耐熱性コリネ型細菌によるグルタミン酸発酵 高温グルタミン酸発酵系の開発を行うため、以下の3点について研究をすすめる。①新規な耐熱性コリネ型細菌を分離するとともに、これまでに得られている耐熱性株やそれらの耐熱化株のゲノム解析と生理学的解析を行う。②耐熱性コリネ型細菌の活性酸素種生成能とその除去酵素系の解析を進めるとともに、その耐熱性機構における役割を明らかにする。加えて、それらの除去系の強化による耐熱化の検証を行う。③遺伝子工学的アプローチによって、コリネ型細菌の高濃度のグルタミン酸生産菌やその他の有用代謝産物生産菌の開発を行う。</p> <p>5) 耐熱性 <i>Gluconobacter</i> と <i>Acetobacter</i> の耐熱性機構の解析とその応用 ノンカイの発酵飲料から単離された、<i>Acetobacter pasteurianus</i> と同定</p>
--	---

	<p>された 2-3R 株は、高い酢酸生産能力を示した。コロニーの形状が他の菌株とは異なることから、多糖の構造が異なることが推測されたので、糖組成分析を行ったところ、SKU1108 と同様であった。IR スペクトルからアセチル基の違いが示唆された。菌膜多糖の構造と耐熱性または酢酸耐性の関係について解析する。<i>Acetobacter tropicalis</i> SKU1100 の Zn-プロテアーゼがグルコース培地 (YPGD 培地) での高温での生育を改善するが、その作用機序について明らかにすることを旨し、Zn-プロテアーゼと耐熱性の関係についてさらに解析する。</p> <p>6) エタノール発酵生産のための耐熱性酵母の交配育種とゲノム解析 これまで耐熱性の異なる 2 つの <i>Kluyveromyces marxianus</i> 株の交配とドラフトゲノム解析により明らかになった遺伝子領域に存在する遺伝子を解析した結果、いくつかの遺伝子が <i>K. marxianus</i> の高温での生存を強化する可能性を示唆する結果を得た。これらの遺伝子の詳細な解析を進め、<i>K. marxianus</i> の耐熱性機構の解明を目指す。また、引き続きエタノール生産性に優れた常温性酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> を用いた変異導入手法の開発を進める。</p> <p>7) 耐熱性分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces japonicus</i> の有効利用 <i>Schizosaccharomyces</i> 属の分裂酵母は現在 4 種類知られているが、世界的によく研究に使用されている <i>S. pombe</i> とは別に、耐熱性のある分裂酵母の <i>S. japonicus</i> のエタノール生産性と CoQ について調べてきた。そしてこの酵母が 42℃ で良好なエタノール生産を行うこと、ほとんどコエンザイム Q (ユビキノン) を合成しないが、微量の CoQ10 を合成することを見出している。日本国内で <i>S. japonicus</i> を単離することに成功し、その性質を調べたところ、エタノール生産性はよく、CoQ の生産能は著しく劣っていた。これまでに単離された異なった地域からの単離株 2 種も同様の性質を示した。これらの結果について論文発表した。継続して <i>S. japonicus</i> の特性について調べていく。</p>
<p>30 年度の 研究交流活動 から得られる ことが期待さ れる成果</p>	<p>1) 耐熱性エタノール生産性酵母の分布調査とストレス耐性分子機構 最終年度として 4 カ国から分離してきた耐熱性エタノール生産性酵母を分類し、これによって地理的分布が把握できる。一方、高温エタノール発酵系の構築のためには耐熱性に優れた酵母の開発が不可欠であり、分布調査の中から候補株を選び出すことができる。また、その代謝特性や制御様式を知ることによって、より安定で有利な発酵が可能になると考えている。これまでの研究結果をまとめ、一般的に使用されている耐熱性の弱い <i>Saccharomyces cerevisiae</i> と比較して、エタノール生産に関する代謝制御機構の共通点や相違点を明らかにする。特に、高温での代謝</p>

	<p>切替えやグルコース抑制の分子機構の把握は高温発酵やセルロース系バイオマス利用に必要な知見が得られると期待される。</p> <p>2) 耐熱性エタノール生産性細菌の分布調査と高温適応の分子機構 これまでより高い温度で生育する <i>Zymomonas</i> 属細菌を創出することができる。また、<i>Zymomonas</i> 属細菌の耐熱化の分子的なメカニズムを明らかにすることが期待される。</p> <p>3) 耐熱性酢酸菌による高温酢酸発酵系の開発 高温・非温度制御・酢酸発酵系の開発に有用な知見を得るとともに、具体的な高温酢酸発酵系の開発や生成される食酢の有効利用が期待される。</p> <p>4) 耐熱性コリネ型細菌によるグルタミン酸発酵 高温条件下でのアミノ酸発酵系の開発に有用な知見を得るとともに、本菌アミノ酸生産性向上に寄与する代謝・生理学的特徴を明らかにすることが期待される。</p> <p>5) 耐熱性 <i>Gluconobacter</i> と <i>Acetobacter</i> の耐熱性機構の解析とその応用 微生物の高温での適応に必要な性質（遺伝子）の同定を行うことで、他の微生物の耐熱性化の設計に寄与することができる。高温発酵系の開発に寄与が期待される。</p> <p>6) エタノール発酵生産のための耐熱性酵母の交配育種とゲノム解析 耐熱性遺伝子の同定により、遺伝子工学的な耐熱性株の開発が可能になる。また、機能解析を通じて耐熱性機構を明らかにすることで、特定の遺伝子に限らず、より汎用的な遺伝子工学的あるいは培養工学的アプローチにより、高温から酵母を保護する方法の開発をスタートさせることが期待できる。</p> <p>7) 耐熱性分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces japonicus</i> の有効利用 分裂酵母の <i>S. japonicus</i> の有効利用を検討していくことは、高温でのエタノール発酵を行うことや、CoQ10 の生産性につながる。あまり知られていない <i>S. japonicus</i> の特性を知り、有効利用に繋げていくことが期待される。</p>
--	---

整理番号	R-3	研究開始年度	平成26年度	研究終了年度	平成30年度
共同研究課題名	(和文) 熱帯性生態系を維持する環境微生物の研究				

	(英文) Research on Environmental Microbes sustaining Tropical Ecosystem
日本側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(和文) 前田 健・山口大学共同獣医学部・教授・1-4 (英文) Ken MAEDA・Joint Faculty of Veterinary Medicine・Professor・1-4
相手国側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(英文) Sunee NITISINPRASERT・Kasetsart University・Associate Professor・2-20 Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Associate Professor・4-1 Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Professor・5-1
30年度の 研究交流活動 計画	<p>亜熱帯の環境に生息する微生物は、温帯である国内で解析されている微生物とは異なる独自の機能を有している。それら微生物を用いた生態系の維持、環境浄化および環境修復、その微生物が産生する有用物質の様々な分野への応用が期待される。本研究課題は、それらの基礎となる微生物と環境・宿主との相互作用について基礎的な検討を行うことにより、他の応用系研究課題への展開を目指している。本年度は、環境汚染物質の分解能を有する微生物の解析、腸内細菌叢や植物内生微生物が有する病原菌抑制物質の解析、植物共生微生物と植物との相互作用の解析、熱帯性藻類と環境との相互作用の解析と藻類が有用物資の探索、病原微生物と動物宿主の相互作用の解析を中心に研究を進める。微生物として、環境細菌・植物細菌・共生細菌・病原微生物のみならず、藻類に着目している点も他の研究課題にはない特徴である。</p> <p>本年度は、タイ・ベトナム・インドネシアの研究者を含む、2か国から4か国による共同研究を11の小研究課題に分けて実施する。なお、今年度における交流は、日本からタイへの派遣6人(延べ39日間)、タイ・ベトナム・インドネシアからの受入7人(延べ90日間)を計画している。さらに、進捗状況の情報共有は各研究グループにおいて電子メール等により随時行われる。</p> <p>1) 耐熱性緑藻による機能性脂質生産 アラキドン酸含有脂質を蓄積する耐熱性緑藻株の探索を目的として、タイと1. タイ各地の水環境、土壌、植物体等からのサンプリングと耐熱性緑藻株の単離、2. 得られた耐熱性緑藻群からのアラキドン酸含有脂質蓄積株の選抜、3. 選抜株のアラキドン酸含有脂質蓄積能の評価および培養条件の検討、を実施する。</p> <p>2) 生態系/環境修復のための有害物質バイオレメディエーションおよび細菌-植物相互作用に關与する微生物機構の研究 除草剤残留成分(クロロアニリン)の分解能を有する植物成長促進根圏細菌 <i>Pseudomonas fluorescens</i> MC46株のクロロアニリン走化性の分子機構の解析を行う。また、環境汚染物質であるアルカン類に対する <i>Pseudomonas</i> 属細菌の走化性センサーのリガンド結合部位の解析を進める</p>

	<p>とともに、発現制御機構について検討する。汚染物質に対する植物の応答はまだ研究が途上であるので、平成 30 年度も継続してタイと研究を行う。</p> <p>3) 熱帯性植物と内生菌との化学的相互作用の解明 タイ北部チェンマイ近郊で採取された新規植物内生菌（種名は同定中）が高濃度に培地中に分泌する赤色素を生成し、LC-MS/MS、NMR により構造を確定することを目的とする。</p> <p>4) タイおよびインドネシア人の腸内細菌叢データに基づいたプロバイオティクスの開発に関する研究 30 年度の CCP では、タイの子どもの腸内細菌叢における短鎖脂肪酸生産のメカニズムをより詳細に調査し、タイの食との関係についてさらなる知見を得ることを目指す。<i>Lactobacillus reuteri</i> KUB-AC5 は、サルモネラ菌に対する抗菌物質を生産している。CCP では、これまでにショットガンクローニング法により抗菌ペプチドの遺伝子候補を得ている。30 年度は、全ゲノム配列を解析し、遺伝子情報を得、その全容解明に努める。</p> <p>5) アジア熱帯地域からの薬物探索資源微生物の開拓 これまでにタイの土壌や植物から分離した 50℃付近を至適生育温度とする好熱性微生物の物質生産能についてスクリーニングを進めてきた。その結果、複数の放線菌様形態を呈する株に有意な二次代謝物生産を認めた。タイとともに好熱性微生物の単離、構造解析を行う。また、相互に訪問し、議論を交わすことで、研究活動の促進と活性化を図る。</p> <p>6) 亜熱帯の生態系保持に関わる淡水プランクトンの研究 ボルボックス目の緑藻が環境条件（水質、温度、pH 等）の指標生物として適していることが明らかとなってきた。そこで、生息域の環境条件の違いを元に、日本産とタイ産のボルボックスについて遺伝子の塩基配列の解析を行い、形態変化や環境適応との関連性を調べる。そして葉緑体ゲノム上のマーカー遺伝子について配列決定を行い、DNA バーコードを構築する。</p> <p>7) 微小藻類における脂肪酸分解由来の香り成分に関する研究 タイ産の微小藻類、特にケイ藻類 (<i>Skeletonema</i>, <i>Thalassiosira</i>) を採取して大量純粋培養の条件を確立する。次に、培養藻類から脂質を抽出して、その脂肪酸組成を精査し、特徴化を行う。また、これらケイ藻類の香り成分を分析して、脂肪酸由来の成分を特定する。さらに、これら脂肪酸由来の香り成分の生理活性（化学防御、アレロケミカル等）ならびにその生合成機構を解明する。以上の成果を学会発表し、論文投稿を行う。</p>
--	--

	<p>8) ゴム園における農薬等の汚染が土壌の微生物活性に与える影響について</p> <p>これまでの研究で単離してきたパラコート分解性糸状菌を用いて土壌中のパラコートの分解を可能にする新しい肥料の開発を行う。具体的には様々なレシピの肥料における菌類の生存特性について調べるとともに、試作された肥料製品について生物学的、化学的および物理的な性質の評価を行う。また、<i>Cunninghamella</i> sp. PFCM-1 株については、形態学および分子生物学的な観点から種の正確な同定を行う。加えて、ジョイントセミナーに参加し、これまでの共同研究の成果について総括する発表を行うと共に、将来の国際共同研究のさらなる展開に向けてディスカッションを行い、研究方針を明確にする。</p> <p>9) 植物葉圏における植物-微生物間相互作用の解析と葉圏微生物による有用物質生産</p> <p>これまでに取得した葉面メタノール資化性細菌について <i>Methylobacterium</i> 属細菌を用いて、植物生長促進作用および微生物-植物間相互作用に関わる因子（微生物が生産する植物生長促進因子、微生物が植物表層で利用する栄養源など）を同定する。また、タイの植物試料から分離された葉面微生物による有用物質生産について、<i>Enterobacter</i> 属細菌によるインドール酢酸（IAA）生産条件の最適化をタイ側で進める。一方、メタノール資化性酵母による有用タンパク質生産およびメタノール誘導性遺伝子発現制御機構解明についても前年度に引き続き日本側で進める。</p> <p>10) 植物共生 <i>Methylobacterium</i> 属細菌の走化性と運動性</p> <p><i>Methylobacterium</i> 属細菌は主要な植物共生細菌の一つで、植物が放出するメタノールを感知し走化性を示す。さらにメタノール特異的に鞭毛が誘導される。この分子メカニズムと共生における重要性を明らかにする。</p> <p>11) アジアにおける感染症の疫学的解析</p> <p>年間タイ全土より 2500 匹の犬の血清、500 匹の猫の血清が回収される。これらを用いて、狂犬病、日本脳炎、E 型肝炎などの人獣共通感染症やデング熱、ジカ熱などの節足動物媒介感染症を網羅的に調査する。インドネシアとイノシシ・ブタを中心とした節足動物媒介感染症や E 型肝炎の調査を継続する。ベトナムとウシ・ブタを中心とした節足動物媒介感染症や E 型肝炎の調査を継続する。</p>
30年度の	上記 11 課題を実施することにより、社会に還元できる有用な成果が得ら

<p>研究交流活動から得られることが期待される成果</p>	<p>れると期待される。以下に、期待される成果を記述する。</p> <p>1) 耐熱性緑藻による機能性脂質生産 アラキドン酸含有脂質を蓄積する緑藻株の種類および蓄積能を日本で単離された常温性株とタイから単離された耐熱性株間で比較することで、アラキドン酸含有脂質の生理学的存在意義解明の糸口とする。また、常温性株を凌駕するアラキドン酸含有脂質蓄積能をもつ耐熱性株が得られれば、この化合物の工業生産に向けた大きな一歩となる。</p> <p>2) 生態系/環境修復のための有害物質バイオレメディエーションおよび細菌-植物相互作用に関する微生物機構の研究 持続可能な社会構築のための基盤技術（環境修復技術）が得られる。また、微生物（特に植物成長促進根圏細菌）-植物相互作用に関する基礎的知見は、持続可能な農業の確立に大きく寄与すると考えられる。</p> <p>3) 熱帯性植物と内生菌との化学的相互作用の解明 現状では安定性と安全性に関して十分満足できる天然植物色素はさほど多くなく、食品業界からは色味安定性に優れ、安全性の高い色素の開発が望まれている。本研究交流活動ではタイ北部で得られた新規な植物内生菌が作り出す天然赤色素の同定を目的としており、精製が達成すれば、安定性、安全性を評価することで本色素が新しい天然赤色素として有用であるかどうかを確定することが可能となる。天然赤色素として有用であることが明らかになれば、培養条件を色素生産に最適化するとともにより効率的な利用法の基礎を確立することが可能となる。</p> <p>4) タイおよびインドネシア人の腸内細菌叢データに基づいたプロバイオティクスの開発に関する研究 日本、タイ、インドネシアの異なる食習慣がどのように腸内細菌叢に影響を与えるか情報が得られれば、それぞれの国民を対象としたプロバイオティクスや健康食品の開発についての新たな展開戦略が生まれると期待される。プロバイオティクス候補株である、<i>Lactobacillus reuteri</i> KUB-AC5 および <i>Lactococcus lactis</i> KAFFL1-4 のプロバイオティクスとしての効果の検証をさまざまな実験手法で行うことで、これらのプロバイオティクスとしての具体的な利用の可能性を探ることができると期待される。</p> <p>5) アジア熱帯地域からの薬物探索資源微生物の開拓</p>
-------------------------------	---

未だ十分な研究がなされていない熱帯性微生物からは、これまでに発見されていない新規な生理活性物質が発見されることが期待される。また、それらの活性評価を通じて医農薬として応用可能な化合物が発見されれば、実用化の可能性も期待できる。

6) 亜熱帯の生態系保持に関わる淡水プランクトンの研究

亜熱帯域、温帯域でのフィールド調査より、各地の特徴的な環境条件に適応したボルボックス近縁種のエコタイプの存在が明らかになりつつある。本研究を更に進めることで、温帯と亜熱帯の株間の遺伝的・形態的差異が明らかにされ、特に亜熱帯環境条件への適応機構や生態系の維持に関する細胞生態学的情報が明らかにされる。

7) 微小藻類における脂肪酸分解由来の香気成分に関する研究

ケイ藻類における脂肪酸由来の香気成分の生成メカニズムの解明ならびにその生理的役割を明らかにすることにより、化学生態学に関する重要な知見が得られる。

8) ゴム園における農薬等の汚染が土壌の微生物活性に与える影響について

これまでの研究で単離されてきたパラコート高分解菌の産業レベルでの実用化を行うと共に、種同定が未了の株については詳細な解析を行って、新種の記載を行うことが期待される。また、国際共同研究ならではの成果を産む為課題の展開と深化に向けて、今後どのような計画で共同研究を行うことが必要かを議論し、新しい国際共同研究チームの結成を目指した将来戦略をより明確なものにして行く。

9) 植物葉圏における植物-微生物間相互作用の解析と葉圏微生物による有用物質生産

作物増収、温暖化ガス排出削減など低環境負荷技術開発につながる成果として、微生物-植物間相互作用に関わる因子の同定や、メタノール資化性酵母による有用タンパク質生産に関わる重要因子の機能解明という成果が期待できる。

10) 植物共生 *Methylobacterium* 属細菌の走化性と運動性

植物と共生細菌が共生を始める段階では微生物の走化性が重要となる。また炭素源・栄養源に依存した鞭毛構成成分の変更という現象は新奇であり、その分子メカニズムと意義を解明して本属細菌の植物生長促進能力への裏付けとする。

	<p>11) アジアにおける感染症の疫学的解析</p> <p>タイの狂犬病ワクチン接種状況の把握とそれによる狂犬病撲滅に向けた対策をとる。各国の節足動物媒介感染症ならびに人獣共通感染症のリスク分析が可能となる。</p>
--	---

整理番号	R-4	研究開始年度	平成26年度	研究終了年度	平成30年度
研究課題名	<p>(和文) 食品、食品保蔵、衛生および生態系維持のための有用微生物研究</p> <p>(英文) Research on Microbes Useful for Food, Food Preservation, Health and Ecosystem</p>				
日本側代表者 氏名・所属・職	<p>(和文) 松井健二・山口大学創成科学研究科・教授・1-3</p> <p>(英文) Kenji MATSUI・Yamaguchi University・Professor・1-3</p>				
相手国側代表者 氏名・所属・職	<p>(英文)</p> <p>Kosum CHANSIRI・Srinakharinwirot University・Associate Professor・2-81</p> <p>Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Associate Professor・4-1</p> <p>Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Professor・5-1</p> <p>Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor・6-1</p>				
30年度の 研究交流活動 計画	<p>本研究課題では以下の17件の共同研究交流活動を計画している。これら全て農環境における食糧生産から、新規機能性食品の創成、食品保蔵技術への展開、更には生態系維持・改善といった、実質的な応用を目途した微生物機能の探索とその技術化を目指している。そのために新規機能を有する微生物の網羅的な探索を実行し、新規微生物種を含め多くの有望な微生物株の単離に成功している。その際、タイを含め東南アジア熱帯地域で伝統的に利活用されてきた微生物種を多く単離し、また、熱帯植物の葉面菌、内生菌、根圏菌、さらには外生菌類を中心に探索を進めた。こうした成果を受け、今年度も更にユニークな視点での微生物単離を実直に進めていく。さらに、これら新規微生物から新規機能性物質の単離を進めており、既に技術化が達成され評価を得ているバクテリオシンとその類縁体の探索、また、これまでに報告例のない作用機作を持つ殺菌成分、新規色素、香料成分などが多く単離され、実質的な応用への展開可能性の評価段階にある。中にはまだ単離構造されていない化合物もあるため、早急に構造決定を進め、その応用可能性を評価する。更に、農生態系微生物叢をSOFIXパラメーターで評価し、農環境における土壌診断に応用する技術は既に応用局面に入っており、その有効性を確実にし、効率的な技術として定着を進める。一方、汚泥処理などにおいて微生物の機能は活用されているが、汚泥に限らず、様々な環境浄化技術のひとつとして微生物の利用を進めてきている。このように研究課題4では、発酵とは異なった側面からの微生物機能の利用に特化し、微生物</p>				

機能の適用範囲を拡大するための基盤醸成を進める。

また、本研究課題は本プロジェクト最多の 17 グループを擁しており、ベトナムやインドネシア、ラオスとの共同研究を推進しているグループもある。なお、今年度における交流は、日本からタイ・ベトナム・インドネシアへの派遣が3人(延べ 14 日間)、タイ・ベトナム・インドネシア・ラオスからの受入が 13 人(延べ 361 日間)を計画している。さらに、進捗状況の情報共有は、各小課題を実施する共同研究者間において電子メール等により随時行われる。

1) タイ北東部における果実から分離した酢酸菌の同定と解析

酢酸菌はアルファプロテオバクテリア門 *Acetobacteraceae* 科に属する絶対好気性菌で、「お酢」を作り出す菌として古くから人類に親しまれてきたバクテリアである。酢酸菌は、エタノールからの酢酸発酵に代表されるように、様々な糖類・アルコール類を酸化して対応する酸化産物を高濃度に蓄積する「不完全酸化代謝」を営むという特徴を持つ。また、人類にとっては食経験を持つまれな菌であり、様々な場面で食品への応用が期待される。酢酸菌は、果実や花など糖類・アルコール類の豊富な環境が天然の生息域となり、当然ながら食酢製造ポットも分離源となる。本研究は、タイ北東部（イサン）由来の様々な果実から多くの酢酸菌を分離しているので、それを属・種レベルで同定し、酢酸発酵能を解析することを目的とした。また、タイの自家製食酢に生息する酢酸菌を分離し、その多様性を調査することも計画した。評価項目として、酢酸発酵能、エタノール耐性能、酢酸耐性能、様々なストレス耐性能を想定している。加えて、属・種レベルでの同定、特徴的な能力が見られた場合にはゲノム解析を行う。

2) 新奇バクテリオシン生産乳酸菌の探索とその利用

発酵食品をはじめとする各国特有の様々な分離源より得られる乳酸菌資源から、引き続き新奇バクテリオシンの探索を行う。分離乳酸菌の系統学的特性、および乳酸菌が生産するバクテリオシンの特性を解析し、それらの応用利用の可能性を評価する。具体的には、まず乳酸菌の菌種を 16S rRNA 遺伝子配列や生理学的特性によって同定し、抗菌スペクトルの解析によってバクテリオシンの新奇性や応用の可能性を評価する。新奇性が高いと判断されるバクテリオシンについては、精製・構造解析を行うとともに、安定性や作用機構等の特性の解析を進める。これまでにタイ・ベトナムへの技術移転を進めてきたが、現地での有用な新奇乳酸菌および新奇バクテリオシンの探索の効率化を図り、主に特性・構造解析を行う日本側との連携を強化する。とくにタイ・ベトナムにおける、発酵食品をはじめとする種々の食品の保存や加工への利用や、ヒトや環境におけるバイオコントロールへの利用について検討を進める。

	<p>3) 微生物の多糖分解酵素の病原性微生物の防除およびオリゴ糖および発酵基質生産への応用</p> <p>29年度は、<i>Streptomyces</i> 属細菌が生産する2種類のα-1,3-グルカナーゼの両遺伝子のクローニングを行い、大腸菌での酵素の高発現系を構築し、組換え酵素の諸性質を検討した。また、α-1,3-グルカナーゼに加え、<i>Streptomyces</i> 属由来キチナーゼを精製し、その諸性質を明らかにした。また、α-1,3-グルカナーゼの口腔内細菌が形成するバイオフィルムの分解作用について検討を加え、う蝕性細菌の防除への応用について検討した。さらに、多糖分解酵素等を利用した畜産未利用物質であるホエーからのクエン酸の高効率簡易発酵生産について検討した。30年度は、多糖分解酵素のうち未検討であった耐熱性放線菌 <i>Streptomyces</i> 属が生産するβ-1,3-グルカナーゼに着目する。β-1,3-グルカナーゼは海藻やきのこに含まれる貯蔵多糖であるラミナランを低分子オリゴ糖に分解することから、ラミナラン含有未利用資源からの機能性オリゴ糖や発酵基質の生産に有用である。本酵素を耐熱性放線菌 <i>Streptomyces</i> 属から均一に精製し、諸性質の検討を行うとともに、酵素遺伝子のクローニングを行い、大腸菌における高発現系の構築を行い、組換え酵素の諸性質を検討する。さらに、本酵素を用いて、海藻やきのこの廃棄試料からβ-1,3-オリゴ糖や発酵基質としてのグルコースの生産について検討する。また、α-1,3-グルカナーゼについては、耐熱性放線菌以外の <i>Streptomyces</i> 属からスクリーニングを Prince of Songkla 大学および Brawijaya 大学のカウンターパートと共同で行い、見出した酵素の生化学的諸性質を解明するとともに本菌のα-1,3-グルカナーゼが耐熱性を有する構造的基盤を比較検討する。</p> <p>4) 耐熱性ラン藻由来の熱安定性物質の応用</p> <p>29年度には、アミノ酸配列情報を基に、フィコシアニン遺伝子のクローニングを進め、他のラン藻での発現 (<i>Synechococcus elongates</i> と <i>Arthrospira plentensis</i>)を進めたものの、大量発現には至らなかった。30年度には大腸菌での発現を行う。コアタンパク質をコードする遺伝子、フィコシアノビルリンやフィコエリスロビルリン (クロモホア) を合成する酵素をコードする遺伝子、さらにはリアーゼ (この場合には、合成酵素となる) を大腸菌で共発現させることで目的達成を図る。フィコウロビルリンやフィコビオビルリンなどのレアビルリン合成遺伝子も入手できているので、それらの機能的発現もあわせて行い、多面的に目的達成を図っていく。</p> <p>5) 多機能性微生物を利用した総合的な農作物生産および廃棄物リサイクル法の確立</p>
--	--

	<p>本年は、(i)タイおよびベトナム土壌より分離された新規放線菌の性質解明と植物病原菌抑制活性の研究成果を化し査読付き国際誌に論文投稿する。また、(ii)POME スラッジ-EFB 共コンポストから分離された新規多機能性植物成長促進細菌のゲノム解析を中心に性質解明を行う。</p> <p>6) 植物内生放線菌の農業への応用 作物生産における農薬や化学肥料の使用量削減を目的として、作物に有用な微生物の開発を行う。具体的には、イネおよび各種野菜から分離した内生および根圏放線菌を用いて、イネの乾燥耐性に関する微生物や、作物に耐病性を付与する微生物を探索する。また、現在得られているイチゴ炭疽病菌に有効な放線菌の有効性について、生化学的手法を用いて解析する。</p> <p>7) ポリ乳酸微生物の応用 最近ではポリ乳酸を素材とした繊維が開発され利用されているが、ポリ乳酸の繊維は結晶性が高く、微生物に分解されにくい性質がある。29年度はポリ乳酸不織布をタイと日本で土壌中に放置し微生物分解を試みたが、18ヶ月間では良好な分解は確認されなかった。30年度は、微生物の分解活動が活発な各種コンポスト中（食品堆肥、鶏糞・牛糞堆肥、木質系堆肥など）でのポリ乳酸不織布の分解を行い、分解微生物の分離を試みる。</p> <p>8) 突然変異を利用した食品保存と健康増進のための新奇モナスカス色素の開発 紅麴菌 (<i>Monascus</i> 属菌) は、東アジア諸国において伝統的に天然着色料の原料として利用され、発酵食品や発酵飲料の製造にも利用されている。それ故、紅麴菌は ASEAN 諸国や日本において重要な食品微生物とされている。これまでに、両研究室において色素生産性を向上させる目的で多くの紅麴菌変異株が作出されている。本研究プログラムでは、抗菌活性、抗酸化活性、保存料あるいは抗光退色性などの機能性を高めた新しい紅麴色素を開発する。本年度は、色素の構造解析と抗菌活性について明らかにする。</p> <p>9) ASEAN 諸国と日本の伝統発酵食品の生理活性ペプチドおよび生理活性物質の活性に関する比較研究 研究の最終目的は、ASEAN と沖縄県の伝統的な発酵食品を健康管理と生活の質向上に役立てるために機能性食品に利用することである。そのために、とうふようや泡盛蒸留粕などの沖縄県の伝統的発酵食品から生理活性ペプチドや機能性化合物を探索する研究を継続する。加えて、我々は東南アジアで広く栽培されている <i>Jatropha curcas</i> の搾油後の種子残渣を用いて紅麴菌で発酵した産物からの生理活性ペプチド・化合物の単離・同定を継続し、in</p>
--	--

	<p><i>in vitro</i> の培養細胞においていくつかの生理学的活性について調べる。今年度からは、紅麹菌で発酵した米糠や熱帯・亜熱帯産マメ類からも生理活性物質の探索を開始する。</p> <p>10) レバナーゼに於ける加水分解生成物のサイズに關与するアミノ酸残基の同定、<i>Bacillus licheniformis</i> 様細菌の 23-37DP 長環状 1, 4 グルカン合成新規酵素の精製、<i>Fusarium</i> sp. F59 の菌体内 α-グルコシダーゼの性質の解析、担子菌由来遺伝子組換え N-型糖鎖遊離酵素の応用開発 <i>B.amyloliquefaciens</i> 由来のエキゾレバナーゼの反応生成物の長さを規定するアミノ酸残基を特定し、特定したアミノ酸を改変し、レバンからフルクトオリゴ糖産生するエンド型酵素に機能変換を目指す。また、<i>Bacillus licheniformis</i> 様細菌の大環状シクロデキストリン合成酵素の反応生成物を HPAEC で検出し、同酵素活性を測定する。同酵素を含む画分について、MALDI-TOF-MS および SDS-PAGE を用いて同酵素タンパク質を特定する。特定したタンパク質の遺伝子データベースをもとに同酵素遺伝子をクローニングし、その高発現系を構築する。さらに、<i>Fusarium</i> sp. F59 の産生する菌体内 α-グルコシダーゼを、同菌体抽出液から MALDI-TOF-MS および SDS-PAGE を用いて同酵素タンパク質を特定する。あわせて、本酵素を精製し、その性質を明らかにする。一方、担子菌由来エンド-α-N-アセチルグルコサミニダーゼ FV および AB を用いて同タンパク質に結合する N-型糖鎖の構造分析への応用を検討する。また、N-型糖鎖を持つネオ配糖体の酵素合成への応用を検討する。</p> <p>11) 微生物機能を活用した安全で高付加価値を有する食料生産 農地土壌の SOFIX 分析は、各大学と立命館大学で分担して実施する。また、データベースの構築は、立命館大学が中心になって進め、各大学と協議をしながら完成させる。有機標準土壌は、これまでのデータベースから、総炭素量、総窒素量等の最適値になるように設計・作製する。</p> <p>12) 酵母 DNA マイクロアレイを用いた酸化グラフェンの抗菌影響評価 酸化グラフェン (GO) は、カルボキシル基、フェニールヒドロキシルおよびエポキシド基を有するグラフェンシートである。GO は、微生物細胞の増殖を阻害することができると考えられている。一方、酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> は毒性学におけるモデル真核生物であり、機能的ゲノミクス解析が可能である。これは、酵母 DNA マイクロアレイは、各遺伝子の相対的な遺伝子発現を決定するための優れたスクリーニングツールだからである。これまでに我々は <i>S.cerevisiae</i> への GO の効果を研究し、GO は酵母の生存能力に影響を及ぼさないことを、銀ナノ粒子の殺菌性と比較</p>
--	---

することで確認している。本研究では、GOの酵母増殖およびゲノムプロファイルへの影響をDNAマイクロアレイ技術によって分析することを目標としていたが、殺菌性を示さないため、発現解析などが達成できていない。30年度は、増殖阻害をも示さないのか、条件検討をしながら、また銀ナノ粒子などと比較することで研究を進める。

13) 熱帯性植物からの担子菌類の単離とその応用

タイ北部の森林地から単離した新規担子菌 *Xylaria* sp.が分泌する抗菌物質の単離同定を進める。これまでに本菌が *Pseudomonas* 菌などに強い抗菌性を有することを見いだした。現在、本菌の培養条件を最適化し本抗菌物質生産性の向上を試みている。また、29年度の交流で本抗菌物質の部分精製を完了し、本物質が比較的不安定であること、本物質が *Xylaria* から報告されている *mellein* 関連物質とは異なることを明らかにしてきた。30年度は本物質の安定化条件を明らかにし、その元で完全精製を実施、高分解能MS分析、NMR分析により構造を明らかにする。

14) ラオス、ベトナム、タイのスターターの比較研究とその微生物資源の利用

ラオスでは伝統的アルコール飲料ラオラオ (*lauh lao*) は自家製の酒としてまたは近隣の人々による小規模仕込みの酒としてつくられている。発酵性酵母やアミラーゼ生産性の糸状菌の生育したスターター、ルパン (*look peng*) を仕込用の麴として使用する。ラオラオを醸造している地域を訪問し、ラオラオ、ルパンとそれらの醸造法および製造法を精査する。申請者はこれまで、タイやベトナムの発酵微生物を調べその知見を利用して新規な機能性アルコール飲料への応用を試みている。今回、ラオラオやルパンより発酵性微生物の分離同定を行い、上記同様、新規機能性アルコール飲料の開発を試みる。原料米に黒米、赤米、緑米、マコモ属ワイルドライス等を用いる。DPPHラジカル消去能と β -カロテン消去能を測定し、強い抗酸化能をもつアルコール飲料の製法を検討する。また、これまでに得ているタイやベトナムのアルコール飲料の知見を活かし、地域をめぐる伝統的アルコール飲料の特性の比較研究もあわせて行う。

15) 除草剤や重金属耐性を持つ土壌微生物の探索

インドネシアで問題となっている農地の残留除草剤のバイオリメディエーションのために、生物多様性に富む熱帯地域（インドネシアのマラン近郊）でスクリーニングした菌類の探索を行った。H30年度もこれを継続し、農薬で汚染された農地土壌（インドネシアのマラン近郊における農薬で汚染された農地を複数地点選定してそれらを対象とする）をサンプリングして、そ

	<p>れらから農薬（対象は除草剤）を分解できる菌類をスクリーニングし、その農薬分解特性を明らかにする。</p> <p>16) 発酵乳中からの乳酸菌とそのファージの単離と特性解析 前年までの研究の結果、タイ国の発酵乳から単離した耐熱性乳酸菌 <i>Lactobacillus paracasei</i> T-25 株および本株を宿主とする耐熱性バクテリオファージ ϕT25 の特性および全ゲノム構造が解明できたので、30 年度は、ϕT25 のタンパク質を分離し、ESI-MS/MS 解析を行いアミノ酸配列を決定し、解読したゲノム情報との相関性を検討する。さらに、T-25 株ゲノム上のファージ耐性に関わる遺伝子群や溶原性ファージ遺伝子などを探索するとともに、DNA マイクロアレイ解析により、ϕT25 の感染プロファイルと T-25 株感染防御の分子機構をマイクロアレイ解析にて解明する。</p> <p>17) 水生植物成長促進細菌を活用したバイオマス生産技術の開発 平成 30 年度からカウンターパートと協力して、日本の食品会社のタイ工場排水を用いたウキクサの生育試験を開始する予定である。これまでに、バンコク郊外から 8 株の野生ウキクサを収集している。まず、これらの株の中から当該工場排水で生育可能なウキクサ、あるいは最も生育が良好なウキクサを選別する。必要に応じて、対象ウキクサ種を増やして検討する。次に、選抜したウキクサを用いて排水中で継代培養を行い、馴致による成長速度の変化を観察する。以上は、カセサート大学で行う。次に、ウキクサ表面細菌群を単離する。単離した細菌株について、基本培地中でのウキクサ成長促進活性を調べる。以上は、カセサート大学及び北海道大学で並行して行う。活性の高い株については、工場排水中でウキクサ成長促進活性とその持続性を評価する。以上はカセサート大学で行う。</p>
<p>30 年度の 研究交流活動 から得られる ことが期待さ れる成果</p>	<p>1) タイ北東部における果実から分離した酢酸菌の同定と解析 人類に有用であると期待される新しい酢酸菌を手に入れ、それらの能力・特徴を知ることができる。特に食酢製造という視点から、新しい展開が期待される。</p> <p>2) 新奇バクテリオシン生産乳酸菌の探索とその利用 現地の微生物資源の有効利用と、食品の品質と安全性の向上に寄与できる。とくに地域特有の様々な発酵食品の製造に関わる未開拓な乳酸菌の発見と、新しいバクテリオシンの発見が期待される。発見された乳酸菌およびバクテリオシンは食品保存・食品加工等への活用が期待される。</p> <p>3) 微生物の多糖分解酵素の病原性微生物の防除およびオリゴ糖および発酵基質生産への応用</p>

	<p>1) 微生物機能を利用した未利用貯蔵多糖からの機能性オリゴ糖と発酵基質の生産</p> <p>海藻やきのこなどの未利用廃棄物試料は、とりわけバイオエタノールなどの有用化合物のバイオ変換資源として注目されている。耐熱性放線菌 <i>Streptomyces</i> 属が生産する β-1,3-グルカナーゼは、α-1,3-グルカナーゼと同様に高い耐熱性を有することが期待される。高い耐熱性を有する酵素は、産業利用に適しており、例えば、海藻やきのこなどの未利用廃棄物試料中に含まれるラミナランを高温で分解することで、(1) 雑菌の汚染を抑えた分解が可能である。(2) 発酵熱による温度上昇を考慮しなくて良い。(3) 耐熱性酵母と並行複発酵の実施が可能である。などの利点がある。このような利点を生かした効率的な未利用廃棄物試料からの機能性オリゴ糖と発酵基質の生産が期待できる。</p> <p>2) 耐熱性 <i>Streptomyces</i> 属 α-1,3-グルカナーゼの耐熱性発現の構造的基盤の解明</p> <p>耐熱性 <i>Streptomyces</i> 属が生産する α-1,3-グルカナーゼは、植物病原菌の防除、有用担子菌類のプロトプラスト調製、α-1,3-オリゴ糖生産、う蝕性細菌にバイオフィルム溶解作用などの有用な特性を有するが、常温性 <i>Streptomyces</i> 属 α-1,3-グルカナーゼと比較することにより、耐熱性を有しない α-1,3-グルカナーゼの耐熱性付与などの酵素の産業利用に有益な酵素の高機能化が期待される。</p> <p>4) 耐熱性ラン藻由来の熱安定性物質の応用</p> <p>フィコシアニンについては、食用等の色素利用、毛染め剤への利用が可能である。</p> <p>5) 多機能性微生物を利用した総合的な農作物生産および廃棄物リサイクル法の確立</p> <p>前者はいずれも新規な発見で学術的にも重要であり、且つ作物栽培におけるバイオコントロール材としての利用が期待される。後者もまた微生物学的新規性を有しており、作物栽培に対する有効性を発揮する利用法開発が期待される。</p> <p>6) 植物内生放線菌の農業への応用</p> <p>① 農業に有効な微生物を利用することにより、農薬や化学肥料の使用量を削減できる。</p> <p>② より安全安心な食品の生産が可能になる。</p> <p>7) ポリ乳酸微生物の応用</p>
--	---

	<p>③ ポリ乳酸を素材とした不織布などの繊維製品の迅速な分解が可能となる。</p> <p>④ 微生物分解は、化学的分解法に比べて、副生成物がなく環境維持に優れている。</p> <p>8) 突然変異を利用した食品保存と健康増進のための新奇モナスカス色素の開発 本研究成果は ASEAN 諸国や日本において、食品、化粧品、機能性食品および水産加工分野において様々な応用展開が期待される。また、抗菌活性において ASEAN 諸国や日本の食品衛生および健康増進に貢献できる。</p> <p>9) ASEAN 諸国と日本の伝統発酵食品の生理活性ペプチドおよび生理活性物質の活性に関する比較研究 ASEAN 諸国の発酵食品および発酵微生物に関する生理活性について引き続き調査・収集し、新しい機能性ペプチドや化合物がこれらの発酵食品から発見されることが期待される。また、これらの発酵産物の抽出液は、薬用化粧品、医療および健康補助食品産業において応用可能であり、アジア圏における健康増進に潜在的な可能性を秘めていると考えられる。</p> <p>10) レバナーゼに於ける加水分解生成物のサイズに關与するアミノ酸残基の同定、<i>Bacillus licheniformis</i> 様細菌の 23-37DP 長環状 1, 4 グルカン合成新規酵素の精製、<i>Fusarium</i> sp. F59 の菌体内 α-グルコシダーゼの性質の解析、担子菌由来遺伝子組換え N-型糖鎖遊離酵素の応用開発 <i>B.amyloliquefaciens</i> 由来のエキゾレバナーゼのアミノ酸改変によってレバンから様々な長さのオリゴレバンの生産が可能となり、食品や化粧品あるいは家畜飼料へ添加し、高機能化を期待できる。また、<i>Bacillus licheniformis</i> 様細菌の産生する大環状シクロデキストリン合成酵素の特異性および遺伝子発現系を構築することによって同酵素を用いた大環状シクロデキストリンの生産とその産業利用が可能となる。さらに、<i>Fusarium</i> sp. F59 の産生する菌体内 α-グルコシダーゼを利用した様々な配糖体の合成が可能となる。一方、担子菌の産生するエンド-β-N-アセチルグルコサミニダ-ゼ FV および AB を用いたヒト生体試料中の糖タンパク質糖鎖の酵素分析法が期待出来る。また、N-型糖鎖を持つ新規生体認識機能を持つ配糖体合成が期待できる。</p> <p>11) 微生物機能を活用した安全で高付加価値を有する食料生産 (1) タイ、インドネシア、および日本の農地の特徴が明らかになることから、それぞれの国における農地土壌の改善手法の提案が可能であ</p>
--	--

ると考えている。特に、化学肥料や農薬の低減につながる提案が可能になることを重要課題として位置づけ、安全な農産物生産につなげていく。

- (2) 安全で付加価値のある食料生産には、肥沃な土壌が不可欠であり、適切かつ再現性のある土壌改善提案が重要である。本プロジェクトの成果は、肥沃な土壌の定義と改善手法の提案、さらにはこれらの農地から安全で付加価値のある食料生産が可能になると考えている。

12) 酵母DNAマイクロアレイを用いた酸化グラフェンの抗菌影響評価
酸化グラフェン (GO) に代表されるような、新材料が本当に殺菌性や毒性を有するのかを検証することにつながる。また、殺菌性や毒性の有無を判断する手法の開発につながる。

13) 熱帯性植物からの担子菌類の単離とその応用

担子菌由来の抗菌物質は動物用殺菌剤として利用されている。今回、タイ北部で見いだされた新規 *Xylaria* 属担子菌はこれまでに報告されていない新規抗菌物質を生成分泌している可能性が高い。この化合物の抗菌スペクトラムが適切で動物やヒトに対する安全性が確認されたら新たな抗菌剤としての利用が期待できる。

14) ラオス、ベトナム、タイのスターターの比較研究とその微生物資源の利用

これまでタイの餅麴ルパンの発酵性酵母とアミラーゼ生産菌やベトナムの餅麴紛メンの発酵性酵母の特性について調べ、それら微生物を新規アルコール発酵醸造に応用した。また、白米以外にも黒米や赤米等の発酵原料を用いて抗酸化能をもつアルコール飲料をつくることができた。ラオスの伝統酒ラオラオ醸造に使われている微生物の特性を調べることにより、アルコール発酵等に応用が可能となる。ラオラオの発酵性酵母を用いて機能性をもつ新規アルコール飲料の開発を試みる。また、タイ、ベトナム、ラオスをめぐる伝統的アルコールの地域間比較研究が可能となる。

15) 除草剤や重金属耐性を持つ土壌微生物の探索

農地の残留除草剤のバイオリメディエーションに利用できる菌類のスクリーニングを継続する。農薬で汚染された農地土壌（インドネシアのマラン近郊における農薬で汚染された農地を複数地点選定してそれらを対象とする）をサンプリングして、それらから農薬（対象は除草剤）を分解できる菌類をスクリーニングし、その農薬分解特性を明らかにする。以上より、農薬や重金属などで汚染された土壌のバイオリメディエーションに資する。

	<p>16) 発酵乳中からの乳酸菌とそのファージの単離と特性解析</p> <p>発酵乳中のファージ汚染の被害は甚大かつ深刻であるが、効果的な対策は未だに確立されていない。本研究を行うことで、汚染ファージ感染機構が明らかとなり、ファージ汚染対策が確立できる。さらに、全ゲノム解読により明らかとなった CRISPR/Cas 配列から本株のファージ感染履歴を明らかにでき、同時に、ファージ感染時の宿主遺伝子応答を調べることで、ファージ耐性に関与する遺伝子を選抜して、これら遺伝子を常時活性化するための培養条件を検討することが可能となる。</p> <p>17) 水生植物成長促進細菌を活用したバイオマス生産技術の開発</p> <p>タイ王国初のウキクサ成長促進細菌が発見される。食品工場排水に適したウキクサ株が発見される。これらは、将来の基礎研究のための貴重な材料・資産となる。一方、実用レベルでの日泰共同研究が推進され、低炭素化技術基盤が構築される。</p>
--	--

整理番号	R-5	研究開始年度	平成26年度	研究終了年度	平成30年度
共同研究課題名	(和文) 新規産業のための次世代発酵技術の構築 (英文) Development of Next-generation Fermentation Technology for New Wave Industry				
日本側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(和文) 星田尚司・山口大学創成科学研究科・准教授・1-15 (英文) Hisashi HOSHIDA・Yamaguchi University・Associate Professor・1-15				
相手国側代表者 氏名・所属・職名・ 研究者番号	(英文) Savitree LIMTONG・Kasetsart University・Professor・2-31 Peter GOETZ・Beuth University of Applied Sciences・Professor・3-1 Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Associate Professor・4-1 Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Professor・5-1 Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor・6-1				
30年度の 研究交流活動 計画	本研究課題では、研究交流目標に挙げているエネルギーや物質の生産系および環境保全に関する技術開発を進めるため、今年度12件の共同研究交流活動を計画している。これらの共同研究は、タイ・ドイツ・ベトナム・インドネシア・ラオスからの、2か国から6か国による共同研究である。今年度の交流は、日本からタイへの派遣2人(延べ日数38日間)、タイ・ドイツ・ベトナム・インドネシアからの受入12人(延べ日数250日程度)を計画している。一方、電子メールでの進捗状況の共有は各小課題におい				

て随時行われる。

これらの交流活動では、バイオリファイナリー技術、つまりバイオマス資源を材料とした生物変換による有用物質生産を目指した共同研究が進行している。バイオリファイナリーで生産されるものとして第一に挙げられるのは、エネルギーとして利用される物質である。バイオエタノールはすでに大量に生産され利用されているが、安定かつ低コストでの生産、あるいは使用バイオマスを拡大することが重要であり、本課題でも3つの共同研究で耐熱性菌を利用した生産方法の開発が進められる。さらに、メタンや水素のガスも重要なエネルギーで、これらを生産するための材料、前処理から発酵方法までを含む様々な共同研究が4つあり、計7つのエネルギー生産関連の研究開発を計画している。これらに加え、組換え体を用いたバイオリファイナリーによる化学品生産の共同研究が進められる。

バイオマス資源からの高付加価値物質の生産あるいはバイオマス資源の効率的な分解を目的として、3つの共同研究で、有用糖の生産及びバイオマス分解のための酵素生産菌のスクリーニング、酵素特性評価、酵素の大量生産に関する研究が行われる。このうち1つはスクリーニングから物質変換のステージに進む。このほか、バイオマスを活用したバイオレメディエーションの共同研究を実施する。

1) 耐熱性細菌を用いた高温高速エタノール発酵系の構築

本共同研究では耐熱性あるいは耐熱化細菌を用いた高温高速エタノール発酵系の構築を目的とする。高温高速発酵は将来の利用が期待される発酵技術で、冷却コストの削減、雑菌混入の抑制、そして生産性の向上が期待できる。本研究では、分離もしくは開発した菌株を用いてラボスケールでの発酵生産実験を実施する。特に、どのようなバイオマスをエタノール生産に用いることが可能か、また、糖化およびエタノール発酵による生産性評価などを実施し比較する。平成29年度はほとんど計画を進めることができなかった。そこで平成30年度も、*Zymomonas* を用いた高温発酵がどれほど効果的なのか、モデルを用いた検討を試みる。

2) 微生物工学的手法を用いた新規の糖の生産技術の開発に関する研究

本研究は、微生物工学の手法を用い、微生物発酵や微生物酵素を用いて、新規の二糖およびオリゴ糖の生産技術を確立することを最終目標にしている。現在までに、日本側では、特に糸状菌の生産する酸化還元酵素 (D-グルコシド-3-デヒドロゲナーゼ、ピラノースオキシダーゼ)、タイ側では、乳酸菌の生産する糖転移酵素 (アミラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ) に関する研究が進んでいる。日本側では平成30年度中

に、タイ側ではすでに 2 報の論文を発表または発表予定である。平成 30 年度は、引き続き日本側のスクリーニングに加え、タイ側の乳酸菌ライブラリも活用し、加リン酸分解酵素、とくにラクトース、マンノースのホスホリラーゼに焦点を当て、微生物のスクリーニングを進めるとともに、酵素反応を用いた新規機能性オリゴ糖の生産基盤技術の確立を目指す。日本人 1 名の短期海外留学制度に基づく学生の派遣計画を進めており、同学生がカウンターパートの研究室において、実施する予定である。

3) 耐熱性酵母を用いた安定した高温エタノール発酵系の構築

これまでの共同研究によって、耐熱性酵母を用いて高温発酵や非温度制御発酵の試験を実施してきた。特に、40℃での発酵と減圧蒸留を安定に少なくとも 3 回繰り返すことができることを示してきた。さらに、ダウンストリームでは従来に無い簡易なエタノール濃縮技術の構築を模索した。最終年度は、これらの技術をより安定な技術にするための詳細な実験をするとともに、セルロース系バイオマス利用で有利となる SSF を試み、高温発酵の優位性を示すことを目指す。また、高温発酵を評価するためにシミュレーションに必要なデータを種々の条件でとる計画である。

4) 耐熱性微生物の生産する菌体外酵素の特性解析および耐熱性微生物を用いた未利用資源の分解と物質生産

平成 29 年度の、本事業として行われた共同研究（神戸大-チェンマイ大学間）にて、蚕繭からセリシンを抽出可能なセリンプロテアーゼについてアミノ酸置換による耐アルカリ性化の検討、トウモロコシ廃棄物からのオリゴキシロ糖が生産可能なキシラナーゼについて *P. pastoris* 形質転換株による発現系の構築、糖エステルが合成可能なリパーゼの特性解析を行った。平成 30 年度、それぞれの分解酵素について、「酵素の精製と特性解析」と「組換え酵素取得を目的とした同遺伝子のクローニングと大量発現系の構築」を進める。また、本事業として行われた共同研究（山形大-チェンマイ大学間）において、タイ国内各地の温泉より、耐熱性・耐アルカリ性を有したプロテアーゼ・ケラチナーゼ生産菌株の分離を実施し、高プロテアーゼ・ケラチナーゼ生産菌株である *Bacillus* sp. SW-X 株の分離に成功した。平成 30 年度は、上記高プロテアーゼ・ケラチナーゼ生産菌株を用いた、余剰バイオマスである鶏羽毛からのプロテアーゼ・ケラチナーゼの効率的な生産を目指した培養条件の最適化を実施する。本検討は、ジャーファンメンターシステム（山形大学設備）を用い、実施する。

5) 加水分解酵素を利用したオイルパーム廃水からのバイオガス生産量の増加

オイルパーム（パーム椰子）から生産されるパームオイルの製造工程から排出される廃水のみならず、その木質および残渣からの第2世代バイオ燃料の生産プロセスの開発において、オイルパームの樹木部分の木質やその残渣を原料としたバイオ水素生産のための前処理工程の高率化（酵素の利用による加水分解工程の加速）、前処理後の可溶化液を用いたバイオ水素+その廃水を用いたバイオメタン生産の高効率化を行ってきた。平成30年度は、上記の最終段階として、オイルパーム廃水やその木質や残渣からのトータルバイオガス生産システムの構築を行う。

6) バイオテクノロジーを用いた産業排水のバイオレメディエーションのための新規手法の開発

熱帯性微生物を利用した植物性バイオマスからの有用生産物（主に環境・バイオテクノロジー用途）の開発として、人工染料（アゾ染料）やPAH等の細胞毒性や発がん性物質を含有する排水の浄化が可能なバイオテクノロジーを用いた産業排水のバイオレメディエーションのための新規手法の開発を *Trametes versicolor* を対象に行ってきた。手法としては、対象微生物の担体固定や各種酵素（キシラナーゼ、セルラーゼ、リグニナーゼ等）の固定化を用いた。さらに、*Aureobasidium pullulans* や *Trametes versicolor* を用いて、排水中の有毒物質のバイオレメディエーションを細胞や酵素の新規固定手法を用いて試みた。H30年度は、上記の最終段階として、農作物残渣などを原料とした低コスト化をさらに進めてデータを蓄積することにより、本研究の成果を環境浄化へ応用する実用化につなげる。

7) 第2世代、第3世代バイオマスからのバイオ水素生産プロセスの開発

食糧と競合しないネピアグラス及びそのサイレージからのバイオ水素およびバイオプラスチックの生産プロセスの開発に関して、バイオ水素の生産における環境因子、F/M比等の最適化を実施しネピアグラスとそのサイレージを混合して牛糞を混合した場合の自己発酵ならびに共発酵についての成果を得た。次に、バイオ水素発酵の原料となるバイオマスの対象を拡大し、微細藻類 (*Chlorella* sp.) をその対象にその前処理方法（酸・加熱法、有機溶媒・触媒法、加水分解酵素添加法）の検討を行った。H30年度は、上記の最終段階として、前処理後の微細藻類 (*Chlorella* sp.) を原料としたバイオ水素の生産について、

統計学的手法を用いてその運転条件を最適化する。

8) 嫌気性発酵におけるホテイアオイからのバイオエネルギー生産のためのセルロース分解微生物の選定

固定化セルラーゼを用いたリグノセルロース加水分解物からの高温ハイトン（水素+メタン）生産に関して、バイオ水素生産のためのリグノセルロースの前処理に関して改良を行い、リグノセルロースを多く含む稲わらを対象に、一相式あるいは二相式高温嫌気性発酵によるバイオエネルギー（水素及びメタン）生産に関するデータ蓄積を行った。また、原料の対象を水生植物（ホテイアオイ）に拡大し、嫌気性発酵におけるホテイアオイからのバイオエネルギー生産のためのデータ蓄積を行った。平成30年度は、稲わらからの還元糖を得るための加温+化学的前処理に関して最適化を行った後にバイオ水素生産実験によりその効果を把握する。

9) 二相式高温嫌気性発酵と微生物電気分解を用いたパームオイル廃水からの高効率水素生産

二相式高温嫌気性発酵によるパームオイル廃水からのハイトン生産の効率化・促進化に関して、高温安定性のアミラーゼ、高温安定性のセルラーゼをタイ南部の温泉地域からスクリーニングした菌により生産させるための研究、を実施し、高濃度の固形物を含むパームオイル排水からのバイオガス生産プロセスの改善のために嫌氣的セルロース分解微生物群の探索・同定を実施し成果を得た。さらに、これまで実施してきた二相式高温嫌気性発酵に微生物電気分解を組み合わせ、パームオイル廃水からの高効率水素生産に関する研究を実施した。平成30年度は、*Geobacillus* sp. PK12 から得られる高温安定性セルラーゼの特性評価とそれを用いたリグノセルロースを多く含むバイオマスの加水分解への適用について研究を行う。

10) 再生可能資源を原料とした有用化成品の発酵生産

低炭素化社会実現のため、再生可能資源から化成品を生産するバイオリファイナリー研究が世界で行われている。アミノ酸生産コリネ型細菌は、アミノ酸の工業的発酵生産に用いられている産業微生物であり、これまでに多くの有用物質生産宿主として活用されてきた実績がある。しかし、我々が本事業でこれまでに構築に成功してきたアセチル CoA を重要中間体に誘導される化合物の生産に関する報告例は驚くほど少ない。そこで、本年度は、これまでに構築してきた合成代謝経路をアミノ酸生産コリネ型細菌に適応させるべく、タイで単離され

	<p>た耐熱性アミノ酸生産コリネ型細菌 <i>Corynebacterim glutamicum</i> N24 株を宿主に、アセチル CoA 誘導体生産のためのプラットフォーム株の作製を行う。</p> <p>11) バイオマス原料を用いたパイロットスケール高温エタノール発酵試験 バイオマス原料、特に廃棄バイオマスを原料としたエタノール発酵、さらには、これに高温を組み合わせた技術は、省エネ型再生エネルギー生産技術として期待が高い。これまでのパイロットスケールでの高温でのエタノール生産試験を踏まえ、平成 29 年度は菌株改良の基礎段階として約 20 の耐熱性酵母株の高温エタノール生産に関する個々の能力評価を行った。平成 30 年度は、明らかになった株間の特性を利用して、遺伝子工学的な菌株育種のために、これらの特性を与える遺伝子の同定を進める。</p> <p>12) 新規に単離された <i>Aspergillus</i> 属真菌および酢酸菌によるガラクトロン酸からガラクトール酸への微生物変換 本研究では、耐熱性微生物が産生する酵素を利用したバイオリアファイナリー技術の構築を目指している。日本およびタイ国で大量に廃棄されている果物果皮等の農産廃棄物に着目して、そこから有用ケミカルを生産するプロセスを確立することを最終目標とした。これまでに、果皮の糖化プロセスとその後の酸化変換プロセスに適した株の単離に成功し、各プロセスの最適化、さらには統合プロセスの構築に注力してきた。平成 30 年度は、柑橘果皮から直接アルダル酸を生産する統合プロセスの完成を目指して、前年度、判明した不具合を解決し、詳細を詰めていくことに注力する。更に、本研究成果の論文化に努める。</p>
<p>30年度の 研究交流活動 から得られる ことが期待さ れる成果</p>	<p>1) 耐熱性細菌を用いた高温高速エタノール発酵系の構築 構築した高温発酵プロセスモデルの検証を行うことで、菌株の耐熱性とエタノールの生産性の比較がモデルによって推察できるかを明らかにできる。これまでに開発した菌株に対して発酵試験を行うことで実用的な利用が可能であることを明らかにすることが期待できる。</p> <p>2) 微生物工学的手法を用いた新規の糖の生産技術の開発に関する研究 平成 29 年度までに、共同研究論文を 2 報(タイ側の成果)出すなど、研究成果が生まれつつある状況にある。また、29 年度ないしは 30 年度の上期にはさらに 2 報の論文(日本側の成果)を出す見込みであり、共同研究の成果がまとまりつつある、しかし、日本側の研究課題であるホスホリラーゼの探索は難易度が高く成果はまだ十分ではないのが現状である。そこで 30 年度は、ホスホリラーゼの探索に絞り、タイ側の</p>

	<p>協力も得て、双方で本酵素を生産する微生物を探索する。また、短期留学制度を利用して、本学学生をカウンターパートの大学に研究派遣する予定にしており、引き続き活発な共同研究の遂行が期待できる。</p> <p>3) 耐熱性酵母を用いた安定した高温エタノール発酵系の構築</p> <p>バイオ燃料需要は今後 10 倍以上に増加すると予測されている。この世界的な需要を満たすためには、第 2 世代バイオマスとしてのセルロース系バイオマス利用が不可欠であるが、そのためにはコスト削減に繋がる革新的な技術開発が必要である。そのために、本課題では、耐熱性酵母を用いた高温発酵とそれと組み合わせたエタノール濃縮の技術開発をすすめ、新規な発酵プロセス技術開発を目指している。これによって、設備費やランニングコストを大幅に削減できる可能性がある。</p> <p>4) 耐熱性微生物の生産する菌体外酵素の特性解析および耐熱性微生物を用いた未利用資源の分解と物質生産</p> <p>対象とする微生物酵素の特性解析および組換え酵素として大量調製法を確立することにより、未利用な農産物廃棄物を分解することで生理活性のあるペプチドやオリゴ糖の生産を省コストで行うことが期待できる。キシラナーゼはバイオマス（トウモロコシ由来廃棄物）の分解とキシロオリゴ糖の合成酵素として、プロテアーゼは機能性（生理活性を示す）ポリペプチド・タンパク質の取得が期待される。また、家禽由来未利用資源の分解に与える環境因子の影響を検討することで、原料の効率的分解と生成物の収率の向上が期待される。</p> <p>5) 加水分解酵素を利用したオイルパーム廃水からのバイオガス生産量の増加</p> <p>加水分解酵素の利用によるパームオイル廃水からのバイオ水素+バイオメタン生産の効率化に加え、オイルパームの樹木部分の木質、その残渣を原料とした前処理の高率化（加水分解工程の加速）、前処理後の可溶化液を用いたバイオ水素、その廃水を用いたバイオメタンの生産の高効率化を組み合わせ、オイルパーム廃水やその木質や残渣からのトータルバイオガス生産システム運転条件に関するデータの蓄積により、パイロットスケールの連続運転を目指す。</p> <p>6) バイオテクノロジーを用いた産業排水のバイオレメディエーションのための新規手法の開発</p> <p>微生物細胞そのものの固定化、あるいは付加価値を高めた各酵素（キ</p>
--	---

シラナーゼ、セルラーゼ、リグナーゼ等について、酵素生産技術とともに) 新規固定化技術の開発をさらに進め、それらの低コスト化を実現するために農作物残渣等を原料に用いるための前処理を含めた諸条件を把握する。以上より、本研究の成果を環境浄化へ応用する技術開発につなげる。

- 7) 第2世代、第3世代バイオマスからのバイオ水素生産プロセスの開発
バイオ水素生の原料となるバイオマスの対象を拡大し、微細藻類 (*Chlorella* sp.) をその対象に加えた。これまで検討した前処理 (酸・加熱法、有機溶媒・触媒法、加水分解酵素添加法等) 後の微細藻類 (*Chlorella* sp.) を原料としたバイオ水素の生産について、統計学的手法を用いてその運転条件を最適化し、プロセス構築のためのデータを得る。もって、第2世代、第3世代バイオマスを用いたバイオ水素生産プロセスの構築の一助となることが期待できる。
- 8) 嫌気性発酵におけるホテイアオイからのバイオエネルギー生産のためのセルロース分解微生物の選定
リグノセルロースを多く含む稲わらを対象に、稲わらからの還元糖を得るための加温+化学的前処理 (酸処理やアルカリ処理を予定) に関して最適化を行う。得られた可溶化液からバイオ水素生産実験によりその効果を把握するためのデータを得る。以上より、リグノセルロース加水分解物からの高温ハイタン (水素+メタン) 生産プロセスの開発に資する。
- 9) 二相式高温嫌気性発酵と微生物電気分解を用いたパームオイル廃水からの高効率水素生産
二相式高温嫌気性発酵によるパームオイル廃水からのハイタン生産の効率化・促進化と、これまで対象としてきた二相式高温嫌気性発酵に新たに「微生物電気分解」を組み合わせたパームオイル廃水からのさらなる高効率水素生産に関して、これまでに一定の成果が得られた。H30年度は、*Geobacillus* sp. PK12 から得られる高温安定性セルラーゼの特性評価とそれを用いたリグノセルロースを多く含むバイオマスの加水分解への適用について研究を実施する。もって、パームオイル廃水からの高効率水素生産プロセスの実用化に資する。
- 10) 再生可能資源を原料とした有用化成品の発酵生産
アミノ酸生産コリネ型細菌は、有用物質生産の宿主として広く用いられている微生物であるが、アセチル CoA 誘導体の生産に関する知見

	<p>は少ない。本研究活動により、アミノ酸生産コリネ型細菌を宿主としたアセチル CoA 誘導体生産を実現できれば、アミノ酸生産コリネ型細菌の生産宿主としての汎用性をさらに拡大するとともに、本菌がなぜこれまでアセチル CoA 誘導体の生産に用いられなかったのかに関する本菌の生理学的な知見が得られることが期待される。</p> <p>11) バイオマス原料を用いたパイロットスケール高温エタノール発酵試験 耐熱性酵母 <i>Kluyveromyces marxianus</i> の菌株育種には交配を用いることも可能であるが、交配頻度や優良株の選択方法及び選択にかかる時間が問題になる。一方で、遺伝子工学的な育種では遺伝子が同定できれば育種にかかる時間は格段に短く、また、あらゆる株に適応できる。従って有用な特性を与える遺伝子の同定により、生産に有利な株の育種が進めやすいと期待できる。</p> <p>12) 新規に単離された <i>Aspergillus</i> 属真菌および酢酸菌によるガラクトン酸からガラクトル酸への微生物変換 本研究課題では、果物残渣等の未利用資源を利活用できる次世代発酵技術の構築を目指す。果物残渣等の農産廃棄物に多量に含まれるペクチンは、セルロースやヘミセルロースに次ぐ再生可能資源として利活用技術の開発が期待されている。上記研究活動により、環境負荷が低減された農産廃棄物のバイオリファイナリー技術が提案できると期待している。</p>
--	---

8-2 セミナー

整理番号	S-1
セミナー名	(和文) 日本学術振興会研究拠点形成事業「バイオ新領域を拓く熱帯性環境微生物の国際研究拠点形成」ファイナルジョイントセミナー (英文) Final Joint Seminar of JSPS Core-to-Core Program “ Establishment of an international research core for new bio-research fields with microbes from tropical areas”
開催期間	平成30年12月2日 ~ 平成30年12月4日 (3日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 日本、山口市、山口大学会館 (英文) Japan、Yamaguchi City、Yamaguchi University Hall
日本側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号	(和文) 山田 守・創成科学研究科・教授・1-1 (英文) Mamoru YAMADA・Graduate School of Sciences and Technology for Innovation・Professor・1-1
相手国側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号 (※日本以外での開催の場合)	(英文) なし

参加者数

派遣先 派遣元		セミナー開催国 (日本)		備考
		A	B	
日本	A.	60	120	
	B.	30		
タイ	A.	40	160	
	B.	10		
ドイツ	A.	3	21	
	B.	0		
ベトナム	A.	6	20	
	B.	2		
インドネシア	A.	5	20	
	B.	10		
ラオス	A.	2	10	
	B.	0		
イギリス (日本側)	A.	2	10	
	B.	0		
合計 <人/人日>	A.	118	361	
	B.	52		

A. 本事業参加者（参加研究者リストの研究者等）

B. 一般参加者（参加研究者リスト以外の研究者等）

※人／人日は、2／14（＝2人を7日間ずつ計14日間派遣する）のように記載してください。

※日数は、出張期間（渡航日、帰国日を含めた期間）としてください。これによりがたい場合は、備考欄にその内訳等を記入してください。

セミナー開催の目的	全員が参加する最終年度の合同セミナーとなることから、ほぼ全部の研究グループが口頭発表できるように計画する。同時に、全ての小研究課題についてポスター発表を行う。これによって本事業活動の成果を共有するとともに今後の展開に向けての新たな課題を見出すことを目的とする。また、共同研究者間での意見交換の機会も設け、本事業での研究成果の論文等への発表や次の共同研究内容について相談する。	
期待される成果	<p>1) 全ての小研究課題の5年間の成果が発表され、これによって事業全体の進展を直接把握できるだけでなく、得られた研究成果を共有し、次期の新たな事業に生かすことができる。</p> <p>2) 共同研究者間で直接打ち合わせができることから、これまでの成果や今後の研究について詳細な打ち合わせができる。</p> <p>3) 異なる研究グループの交流によって研究成果や研究手法に関する情報交換ができ、ネットワーク形成に繋がる。</p> <p>4) 本セミナーは最終合同セミナーであることから、構成員全員で今後の展開について意見交換できる機会となる。</p>	
セミナーの運営組織	本事業の組織委員会を運営組織とする。	
開催経費 分担内容	日本側	内容：国内旅費、外国旅費、謝金、消耗品費、その他の経費
	タイ側	内容：外国旅費
	ドイツ側	内容：外国旅費
	ベトナム側	内容：外国旅費
	インドネシア側	内容：外国旅費
	ラオス側	内容：外国旅費

整理番号	S-2
セミナー名	（和文）日本学術振興会研究拠点形成事業「バイオ新領域を拓く熱帯性環境微生物の国際研究拠点形成」ファイナルサテライトセミナー
	（英文）Final Satellite Seminar of JSPS Core-to-Core Program “Establishment of an international research core for new bio-research fields with microbes from tropical areas”

開催期間	平成30年11月22日（1日間）
開催地（国名、都市名、会場名）	（和文）ラオス、ビエンチャン、ラオス国立大学
	（英文）Lao PDR、Vientiane、National University of Laos
日本側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号	（和文）山田 守・創成科学研究科・教授・1-1
	（英文）Mamoru YAMADA・Graduate School of Sciences and Technology for Innovation・Professor・1-1
相手国側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号 （※日本以外での開催の場合）	（英文）Gunjana THEERAGOOL・Kasetsart University・Associate Professor・2-41
	Peter GOETZ・Beuth University of Applied Sciences・Professor・3-1
	Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor・6-1

参加者数

派遣先 派遣元		セミナー開催国 (ラオス)		備考
		A.	B.	
日本	A.	6/24		
	B.	3		
タイ	A.	10/30		
	B.	10		
ドイツ	A.	2/8		
	B.	0		
ラオス	A.	5/10		
	B.	20		
合計 <人/人日>	A.	23/72		
	B.	33		

A. 本事業参加者（参加研究者リストの研究者等）

B. 一般参加者（参加研究者リスト以外の研究者等）

※人/人日は、2/14（＝2人を7日間ずつ計14日間派遣する）のように記載してください。

※日数は、出張期間（渡航日、帰国日を含めた期間）としてください。これによりがたい場合は、備考欄にその内訳等を記入してください。

セミナー開催の目的	サテライトセミナーは毎年実施し、それぞれの開催国の共同研究の進展を紹介するとともに、今後の研究の展開について相談する機会となる。加えて、現地の研究環境を視察するとともに、主催大学の関連分野の研究者や学生に本事業の紹介をするとともに交流も行う。今回のセミナーはe-ASIA共同研究の会議と合同で実施する予定である。なお、このe-ASIA共同研究は本事業の研究を基盤とするもので、本事業の研究課題1と5を実施している。
-----------	---

期待される成果	<p>1) ラオスとの共同研究を中心とした研究成果発表の機会であり、今後の研究交流に向けた有用な情報交換の場となる。</p> <p>2) 本事業について、ラオスの研究者や学生あるいは企業に対して広報ができる。</p> <p>3) ラオスの研究環境を視察し、今後の共同研究の実施方法等を考えるうえで参考になる。</p> <p>4) ラオスの企業や政府機関との交流の場となる。</p>	
セミナーの運営組織	本事業の組織委員会を運営組織とする。	
開催経費 分担内容	日本側	内容：国内旅費、外国旅費、不課税取引・非課税取引に関わる消費税
	タイ側	内容：外国旅費
	ドイツ側	内容：外国旅費
	ラオス側	内容：国内旅費、滞在費、消耗品費、その他の経費

整理番号	S-3	
セミナー名	(和文) 日本学術振興会研究拠点形成事業「バイオ新領域を拓く熱帯性環境微生物の国際研究拠点形成」Thailand Research Expo 分科会	
	(英文) Session in TRE, JSPS Core-to-Core Program “ Establishment of an international research core for new bio-research fields with microbes from tropical areas”	
開催期間	平成30年8月10日 (1日間)	
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) タイ、バンコク、センターラグラウンドアンドバンコクコンベンションセンター	
	(英文) Thailand, Bangkok, Centara Grand & Bangkok Convention Centre	
日本側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号	(和文) 山田 守・創成科学研究科・教授・1-1 (英文) Mamoru YAMADA・Graduate School of Sciences and Technology for Innovation・Professor・1-1	
相手国側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号 (※日本以外での開催の場合)	(英文) Gunjana THEERAGOOL・Kasetsart University・Associate Professor・2-41 Anton MUHIBUDDIN・Brawijaya University・Professor・5-1	

参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 (タイ)		備考
	A.	B.	
日本	A.	8/24	
	B.	4	
タイ	A.	100/100	
	B.	100	
インドネシア	A.	3/6	
	B.	4	
合計 <人/人日>	A.	111/130	
	B.	108	

A. 本事業参加者（参加研究者リストの研究者等）

B. 一般参加者（参加研究者リスト以外の研究者等）

※人/人日は、2/14（＝2人を7日間ずつ計14日間派遣する）のように記載してください。

※日数は、出張期間（渡航日、帰国日を含めた期間）としてください。これによりがたい場合は、備考欄にその内訳等を記入してください。

セミナー開催の目的	本事業にはタイの多くの大学やその関係者がかかわり、先端的研究や新技術開発を進めている。そこで例年と同様に NRCT の支援を受けて、Thailand Research EXPO 2018 の分科会で本事業の研究発表を公表し、タイの一般研究者や企業関係者に本事業成果や研究開発の内容を広く公開する。	
期待される成果	本事業での共同研究成果や共同で開発した技術を紹介できる。本年度は特に、環境微生物や病原微生物を中心とした研究発表を行い、それらの知見について広く意見を得るとともに、将来的にタイ企業等による活用に繋がると期待される。	
セミナーの運営組織	本事業の組織委員会を運営組織とする。	
開催経費 分担内容	日本側	内容：国内旅費、外国旅費、不課税取引・非課税取引に関わる消費税
	タイ側	内容：国内旅費、滞在費、謝金、消耗品費、その他の経費
	インドネシア側	内容：外国旅費

整理番号	S-4
セミナー名	(和文) 日本学術振興会研究拠点形成事業「バイオ新領域を拓く熱帯性環境微生物の国際研究拠点形成」第15回若手研究者セミナー

	(英文) The 15 th Young Scientist Seminar of JSPS Core-to-Core Program “ Establishment of an international research core for new bio-research fields with microbes from tropical areas”
開催期間	平成30年11月13日～平成30年11月14日 (2日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) 日本、山口市、山口県セミナーパーク (英文) Japan、Yamaguchi、Yamaguchi-ken Seminar Park
日本側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号	(和文) 山田 守・創成科学研究科・教授・1-1 (英文) Mamoru YAMADA・Graduate School of Sciences and Technology for Innovation・Professor・1-1
相手国側開催責任者 氏名・所属・職名・研究者番号 (※日本以外での開催の場合)	(英文) なし

参加者数

派遣先 派遣元		セミナー開催国 (日本)		備考
		A.	B.	
日本	A.	10/20		
	B.	50		
タイ	A.	4/8		
	B.	30		
ベトナム	A.	4/8		
	B.	6		
インドネシア	A.	2/4		
	B.	10		
合計 <人/人日>	A.	20/40		
	B.	96		

A. 本事業参加者 (参加研究者リストの研究者等)

B. 一般参加者 (参加研究者リスト以外の研究者等)

※人/人日は、2/14 (= 2人を7日間ずつ計14日間派遣する) のように記載してください。

※日数は、出張期間 (渡航日、帰国日を含めた期間) としてください。これによりがたい場合は、備考欄にその内訳等を記入してください。

セミナー開催の目的	本セミナーは、熱帯環境微生物だけでなく生物全般を研究対象とする若手研究者のためのグローバル人材育成の一環として実施し、研究成果発表等を通じて若手研究者の国際的なネットワーク形成に繋げる。本セミナーの企画・運営は日本人や外国人の大学院生が中心となつて行われ、招聘講師による講演に加えて、参加者全員がそれぞれの研究成果を英語で発表し、質疑応答を行う。
-----------	---

期待される成果	<p>1) セミナー企画・運営の経験を積むことができる。</p> <p>2) 英語による研究成果発表や討議の機会となる。</p> <p>3) 若手研究者は自身の研究について様々な角度から意見を得ることができる。</p> <p>4) 一般的な微生物研究を深く知る機会となる。</p> <p>5) 他国の若手研究者との交流ができることから、異文化を知る機会となるだけでなく、国際的なネットワーク形成が期待される。</p>	
セミナーの運営組織	若手研究者によって運営委員会が組織され、本事業の組織委員会は支援組織となる。	
開催経費 分担内容	日本側	内容：消耗品費、その他の経費
	タイ側	内容：なし (共同研究滞在中の参加のため)
	ベトナム側	内容：なし (共同研究滞在中の参加のため)
	インドネシア側	内容：なし (共同研究滞在中の参加のため)

8-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

共同研究、セミナー以外の交流（日本国内の交流を含む）計画を記入してください。

所属・職名 派遣者氏名・研究者番号	派遣時期 (●月・●日間)	訪問先・内容
山口大学・教授 山田 守・1-1	2018年2月・ 4日間	訪問先：タイ 内容：次年度計画の打ち合わせ
山口大学・准教授 薬師寿治・1-17	2018年2月・ 4日間	訪問先：タイ 内容：次年度計画の打ち合わせ

※1名につき1行で記入してください。

8-4 中間評価の指摘事項等を踏まえた対応

①評価コメント（抜粋）：総合的評価、1. これまでの交流を通じて得られた成果の学術的側面および3. 今後の研究交流活動計画において指摘された「総花的であり、もっと絞り込んで先端的研究をめざすべき」について

対応：「バイオ新領域を拓く熱帯性環境微生物の国際研究拠点形成」を目指す本事業課題は、「熱帯性環境微生物の探索とその利活用」をその重要な柱としている。そのためには、総合評価のコメントの冒頭に記されているように、熱帯環境を有する国々の研究者との共同研究の推進と、その活動の中での信頼関係や友好関係の構築が不可欠である。一方で、「熱帯性環境微生物の探索とその利活用」を推進するためには多様な研究が基盤として必要であり、コメントにもあるように「総花的」になるキライがある。とはいえ、「世界水準の先端研究拠点」を目指すために、その生態学から生理学にわたる多様な研究の中から新規性の高い研究を伸ばし、先端研究として発展させる必要がある。そのため、「多様な熱帯性環境微生物の潜在能力の発掘と新規利用法の開発」（課題1、4）、「熱帯性環境微生物の特性である耐熱性原理の解明」（課題2）、「熱帯環境からのウイルス伝播ルート

の解明」（課題3）、「東南アジアの食文化と腸内細菌叢」（課題3）、「耐熱性を利用した高温発酵・次世代型バイオ燃料生産技術の開発」（課題5）など、先端的な研究を目指した研究交流が複数の国のメンバーの協力によって進められている。さらに、より特化した小グループによって以下の3つの先端的な研究が行われている。研究課題2の中のグループによるJST・ALCA事業（代表：松下一信）「低炭素化に資する発酵微生物のゲノム育種およびゲノム工学的「耐熱化」（23年度～）、研究課題3のグループによるJST・e-ASIA共同研究（代表：前田健）「アジアにおける節足動物媒介新興感染症制御手法構築のための総合研究」（27年度～）、そして研究課題5の中のグループによるJST・e-ASIA共同研究（代表：山田守）「ASEANバイオマス活用に向けた耐熱性微生物を利用するバイオ燃料等変換プロセスの開発」（29年度～）である。一方で、研究課題間の多様な連携も進行し、基礎研究から応用研究への連携、つまり研究課題1の成果を研究課題2や4や5に利用する横の連携も進めている。このように、5つの課題が並行して、かつ連携しながら種々の先端的な基礎研究を発展させ、社会実装へ向けた大きな流れを創ろうとするとところが本事業

業の特徴である。しかしながら、指摘されているように「世界の微生物学を主導できる」展開を目指すには、将来的に、現在行われている課題の中から真に先端的な課題を抽出し、発展させて行く必要があると考えている。その意味で、本事業の強みを生かすために「耐熱性微生物」、「耐熱性遺伝子」、「高温限界温度の代謝」、「耐熱化と高温適応」、「高温発酵」などの研究を推進するとともに、ドイツやイギリスとの共同研究を増やししながら先端研究に挑戦して行く予定である。

②評価コメント（抜粋）：総合評価において指摘された「参加研究者の再考が必要で、同一分野の研究者が多数重なっていることの改善等により組織のブラッシュアップが求められる」について

対応：「参加者の再考」については、現在、本事業が進行中であることから国内のメンバーの大幅な変更は難しいが、次期の事業に向けて検討を進めているところである。一方、相手側の参加者については、100名以上のメンバーがいるタイ側について、そのメンバーの組換えではなく、彼らの中から高い研究能力を有する人材の育成に鋭意努めているところである。学術論文やセミナー発表等、業績の顕著な若手研究者を優先して日本へ招聘し、日本での共同研究の機会を提供しており、また他の外部資金による、より特化した先端研究への参加を促している。さらに、平成30年度開催する第8回国際発酵会議、Thailand Research EXPO 2018、ラオスで開催するサテライトセミナーでは、それぞれの課題のなかで顕著な実績や優れたシーズを挙げている研究課題を選択し、発表させる予定である。

③評価コメント（抜粋）：1. これまでの交流を通じて得られた成果の研究業績に関する指摘「トップジャーナルに掲載されているわけでもなく、研究者数を考えると決して業績が多いとは言えない」について

対応：微生物を研究材料としていることや科学研究の発展途上国との共同研究が中心であることなどのためにトップジャーナルへの論文発表は簡単ではないが、トップジャーナルの1つである Science (351:1196-1199; 353:759)に、既に退官しメンバーから外れた小田が、以前の拠点事業からの長期にわたる研究を報告している。今後、各専門分野の Top10% 補正論文等を増やすよう努力する。一方、本事業の性質上、相手国参加者との共著論文を中心とせざるを得ず、また、本事業予算（交流経費）を利用した研究論文に絞って提出していることから、論文数に限りがあるのは否めない。しかしながら、学術論文数については、平成26年度：9報（共著7報）、平成27年度：31報（共著21報）、平成28年度：68報（共著31報）と増加傾向にあり、本事業が順調に進んでいることを反映していると考えている。

④評価コメント（抜粋）：2. 事業の実施状況における研究交流に関する指摘「日本人研究者の外国における滞在日数が少ないこと」、「タイとの交流が大部分であり、その他の国との交流が少ない」、「マッチングファンドが少ない国がある」について

対応：共同研究にかかる交流に関する指摘されている懸念については十分認識している。

まず、日本からの派遣が少ない点は、本事業の相手国の性質からして理解をお願いしたいところである。つまり、相手国側には熱帯性微生物資源が豊富にあり、これは重要な利点であるが、ドイツもしくはイギリス（後述）以外は研究施設や解析技術等の問題があり、日本に相手国の研究者を招聘して研究する機会がどうしても多くなるからである。なお、日本人研究者1名が毎年1ヶ月以上タイに滞在し、今年度も同様な計画である。一方、タイ以外の国との交流拡大については、以下のように現在進めているところである。インドネシアでは、これまで支援機関が拠点大学のブラビジャヤ大学であったことから、他の協力大学との交流が限られてきた。インドネシア側コーディネーターおよび日本側コーディネーターが Ristekdikti と交渉し、平成 28 年度の途中から幾つかの協力大学のメンバーに Ristekdikti からの研究費支援が開始され、徐々に交流が拡大している。これに関連して、Ristekdikti は平成 29 年度に新規に若手研究者短期派遣プログラムを開始し、14 名 2 ヶ月間派遣し、平成 30 年度も実施予定である。インドネシアは、日本だけでなくタイ、ドイツ、ベトナムにも研究者を派遣してきており、平成 30 年度も派遣する予定である。一方で、ドイツでは、ドイツ政府機関や拠点大学からの支援を受けて、平成 28 年 1 月にタイ、インドネシア、ベトナムでセミナーを開催し、平成 29 年 2 月からベトナムに若手研究者を長期派遣している。平成 30 年度は 1 名の学生を 5 ヶ月間日本へ派遣する計画である。さらに、インドネシア側と協力してインドネシア企業の発酵生産に関する技術支援を進めている。また、イギリスに関しては、日本およびタイから、平成 28 年度に若手研究者をイギリスにそれぞれ一ヶ月派遣し、高温発酵のシミュレーション評価のための基礎研究や複数の微生物による複合発酵のシミュレーション化など、先端的な共同研究を開始した。イギリスは今年度も予算獲得を目指し、特に、ベトナムとの共同申請をする予定である。さらに、平成 29 年度から発酵関連技術開発を目指す e-ASIA 共同研究が開始されたことから、日本とタイだけでなく、ラオスやインドネシアとも、より太い交流が形成されつつある。

⑤評価コメント(抜粋): 3. 今後の研究交流活動計画において指摘された「拠点事業の継続・発展のための後継者育成が必要」および 2. 事業の実施状況において指摘された「拠点機関参加者と協力機関参加者の活動の差が大きい」について

対応: 熱帯性環境微生物の開発のためには、本事業のような国際拠点事業を永続的に遂行する必要があり、そのためには日本側の後継者育成が極めて重要となる。本事業では、後継候補者に共同研究やセミナーに参加するだけでなく、理解を深めるために事業運営に直接参加してもらっている。5つの研究課題に、それぞれリーダーとサブリーダーを配し、運営委員会を開催して本事業のセミナー等の年度計画とその諸課題についての討議を行っている。平成 30 年度についても、各種セミナーのテーマ決定、口頭発表者の選出等をリーダーとの討議を基に進めている。また、リーダーやサブリーダーが、メンバーと連絡を密に取りながら、研究課題毎の計画書や報告書の取り纏めを行い、研究課題の実態を把握すると同時に、メンバーとの意思疎通を図っている。

9. 平成30年度研究交流計画総人数・人日数

9-1 相手国との交流計画

派 遣先	四半期	日本	タイ	ドイツ	ベトナム	インドネシア	ラオス	イギリス (日本側)	合計
日本	1		0/0 (2/10)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/10)
	2		5/48 (4/20)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/8)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	5/48 (6/28)
	3		2/10 (4/20)	0/0 (0/0)	1/4 (2/8)	0/0 (2/10)	2/6 (6/24)	0/0 (0/0)	5/20 (14/62)
	4		3/18 (4/20)	0/0 (0/0)	0/0 (1/5)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	3/18 (5/25)
	計		10/76 (14/70)	0/0 (0/0)	1/4 (3/13)	0/0 (4/18)	2/6 (6/24)	0/0 (0/0)	13/86 (27/125)
タイ	1	0/0 (3/80)		0/0 (0/0)	0/0 (1/5)	0/0 (1/5)	0/0 (2/6)	0/0 (0/0)	0/0 (7/96)
	2	0/0 (4/150)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	0/0 (0/0)	0/0 (6/154)
	3	40/600 (10/500)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (10/30)	0/0 (0/0)	40/600 (20/530)
	4	0/0 (6/210)		0/0 (0/0)	0/0 (2/10)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	0/0 (0/0)	0/0 (10/224)
	計	40/600 (23/940)		0/0 (0/0)	0/0 (3/15)	0/0 (1/5)	0/0 (16/44)	0/0 (0/0)	40/600 (43/1004)
ドイツ	1	0/0 (1/30)	0/0 (0/0)		0/0 (1/90)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/120)
	2	0/0 (1/92)	0/0 (1/5)		0/0 (1/50)	0/0 (1/5)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (4/152)
	3	3/21 (1/31)	0/0 (2/6)		0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	0/0 (2/8)	0/0 (0/0)	3/21 (7/49)
	4	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	計	3/21 (3/153)	0/0 (3/11)		0/0 (2/140)	0/0 (3/9)	0/0 (2/8)	0/0 (0/0)	3/21 (13/921)
ベトナム	1	0/0 (2/30)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/30)
	2	0/0 (1/60)	0/0 (1/15)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/75)
	3	6/110 (4/200)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	6/110 (4/200)
	4	0/0 (1/30)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (1/30)
	計	6/110 (8/320)	0/0 (1/15)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	6/110 (9/335)
インドネシア	1	0/0 (2/10)	0/0 (1/3)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (3/13)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (3/66)	0/0 (1/60)	0/0 (1/60)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (5/188)
	3	5/100 (10/600)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (2/8)	0/0 (0/0)	5/100 (12/608)
	4	0/0 (1/5)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (1/5)
	計	5/100 (13/615)	0/0 (4/69)	0/0 (1/60)	0/0 (1/60)		0/0 (2/8)	0/0 (0/0)	5/100 (21/612)
ラオス	1	0/0 (1/58)	0/0 (1/90)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (2/148)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	3	1/5 (1/90)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	1/5 (1/90)
	4	0/0 (1/90)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (1/90)
	計	1/5 (3/238)	0/0 (1/90)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	1/5 (4/528)
イギリス (日本側)	1	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (1/5)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (1/5)
	3	2/10 (0/0)	0/0 (2/6)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		2/10 (4/10)
	4	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)
	計	2/10 (0/0)	0/0 (2/6)	0/0 (0/0)	0/0 (3/9)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		2/10 (5/15)
合計	1	0/0 (9/208)	0/0 (4/102)	0/0 (0/0)	0/0 (2/95)	0/0 (1/5)	0/0 (2/6)	0/0 (0/0)	0/0 (19/417)
	2	0/0 (6/302)	5/48 (9/106)	0/0 (1/60)	0/0 (3/115)	0/0 (2/4)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	5/48 (24/600)
	3	57/846 (26/141)	2/10 (8/32)	0/0 (0/0)	1/4 (4/12)	0/0 (4/14)	2/6 (20/70)	0/0 (0/0)	62/866 (62/1004)
	4	0/0 (9/335)	3/18 (4/20)	0/0 (0/0)	0/0 (3/15)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	0/0 (0/0)	3/18 (10/374)
	計	57/846 (80/1004)	10/76 (25/281)	0/0 (1/60)	1/4 (12/227)	0/0 (8/32)	2/6 (26/84)	0/0 (0/0)	70/932 (122/1004)

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流する人数・人日数を記載してください。(なお、記入の仕方の詳細については「記入上の注意」を参考にしてください。)

※相手国側マッチングファンドなど、本事業経費によらない交流についても、カッコ書きで記入してください。

※相手国以外の国へ派遣する場合、国名に続けて(第三国)と記入してください。

9-2 国内での交流計画

	交流予定人数 <人/人日>
合計	0 / 0 (70 / 110)

10. 平成30年度経費使用見込み額

(単位 円)

	経費内訳	金額	備考
研究交流経費	国内旅費	8,800,000	国内旅費、外国旅費の合計は、研究交流経費の50%以上であること。
	外国旅費	2,000,000	
	謝金	100,000	
	備品・消耗品 購入費	276,000	
	その他の経費	2,200,000	
	不課税取引・ 非課税取引に 係る消費税	224,000	
	計	13,600,000	研究交流経費配分額以内であること。
業務委託手数料		1,360,000	研究交流経費の10%を上限とし、必要な額であること。また、消費税額は内額とする。
合 計		14,960,000	