

案件名	危険害虫の生物的制御に有用なバチルス・スファエリクス資源の分類学的整理と有用遺伝子資源の探索
派遣専門家	小柳津広志
所属機関	東京大学 生物生産工学研究センター・教授
相手国研究機関	アルメニア微生物保管センター (Microbial Depository Centre (syn. State Microbial Depository Centre, RCDM), Department of the Centre of Microbiology and Microbial Depository, NAS of Armenia, CMMD)

アルメニアでの活動について

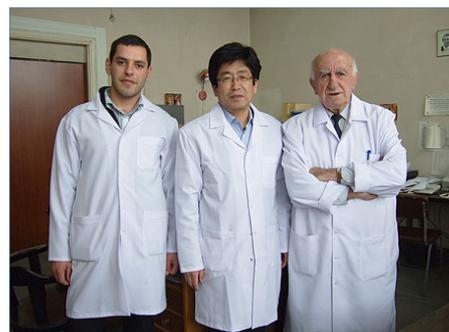
(平成 22 年 4 月 ~ 5 月)

平成 22 年 4 月 7 日から 5 月 1 日の間、アルメニア国科学アカデミーの微生物株保存センターに滞在して、*Bacillus thuringiensis* および *Bacillus sphaericus* とその近縁細菌の遺伝子レベルの同定を行ってきました。

このグループの細菌はほとんどの株が細胞内に細胞の長さの 1/4 ほどのサイズの巨大なタンパク質の結晶を生成します。この結晶性タンパク質は昆虫を殺す作用があり、自然界ではこの細菌は植物の葉の上に生息し、葉が昆虫に食べられると腸内で毒性を発揮して昆虫を殺し、昆虫の死がいや栄養物として利用して増殖します。このセンターではこのような結晶性のタンパク質を生成する細菌を約 8000 株保有しており、世界でも稀にみる大きなコレクションとなっております。私は同センターからこれらの結晶性タンパク質を有効に利用できないかと依頼され、菌株の同定と結晶性タンパク質の特性を調査することになりました。

センターの長は Evrik G Afrikian (写真右) という方で 86 才という高齢にもかかわらず、頭脳明晰で自ら実験を行うという超人的な研究者でこれには驚きました。アルメニア国は旧ソビエト連邦の 1 つの国であり、ソ連時代は連邦の中心的な微生物研究所であったそうようで、当時は 3000 人のスタッフを擁する一大研究機関であったそうです。しかし、現在は約 50 人の規模になってしまいました。研究所は午前 10 時に職員が出勤してきますが、毎日午後 2 時過ぎには断水してしまいます。実験で汚れた手も洗えず、トイレも使用できない状態になってしまいます。

また、同国の人口は約 300 万人と少なく、試薬の代理店も限られているため、必要な試薬の購入には高額な価格が設定され、時間がかかるという状況でした。同国の南はイラン、東はアゼルバイジャン、西はトルコとグルジアに囲まれており、チグリスユーフラテス文明の発祥した地域に近く、文明は紀元前から発達した非常に古い国です。しかしながら、長い間周辺の国の侵略を受け、現在では非常に小さな国になってしまいました。特に 20 世紀の初頭に起こったオスマントルコによる侵略は悲惨な虐殺を含むものであったため、多くの民衆が海外に逃げたそうで、米国を中心とした海外在住のアルメニア人は 1500 万人にも達するという事です。



左:一緒に研究を行った研究員、右:センター長

案件名	危険害虫の生物的制御に有用なバチルス・スファエリクス資源の分類学的整理と有用遺伝子資源の探索
派遣専門家	小柳津広志
所属機関	東京大学 生物生産工学研究センター・教授
相手国研究機関	アルメニア微生物保管センター (Microbial Depository Centre (syn. State Microbial Depository Centre, RCDM), Department of the Centre of Microbiology and Microbial Depository, NAS of Armenia, CMMD)

危険害虫の生物的制御に有用なバチルス・スファエリクス資源の分類学的整理と有用遺伝子資源の探索
(平成 22 年 9 月 ~ 10 月)

今回のアルメニア国への訪問は、4月に訪問した続きの研究を行うためであった。前回の派遣と同様に *Bacillus* 属菌株の培養、菌体からの DNA 抽出および菌株の顕微鏡観察を行った。今回用いた菌株は約 400 株であった。前回対象とした菌株約 350 株と合わせて合計 750 株にも達したため、菌株の番号間違いなどの混乱を防ぐため、使用した菌株の由来、アルメニア微生物保管センターでの顕微鏡観察、生理生化学的性質に基づく同定結果などの情報を整理した。抽出した DNA は日本に持ち帰り、すべての生物が保有して進化の歴史において生物間で移動がなかったと考えられている遺伝子であるリボソーム RNA の塩基配列解読を行った。塩基配列の解読では使用する試薬類が高価であるため、配列解読を行う菌株を限定して行った。まず、*Bacillus thuringiensis* と *Lysinibacillus sphaericus* (旧名 *Bacillus sphaericus*) を区別する遺伝子増幅反応(PCR)を行い、*Bacillus thuringiensis* と考えられる菌株を除外した。残りの菌株について、リボソームの小サブユニットに存在する 16S rRNA の塩基配列の 5 末端から約 500 塩基付近までを解読した。

つぎに、リボソーム 16S rRNA の塩基配列の結果に基づき、これらの菌株の系統関係を近隣結合法(NJ 法)という系統樹作成のアルゴリズムを用いて類推した(図)。図の上の部分に形成されているクラスターが *Lysinibacillus* 属と考えられる菌株で、下の部分のクラスターはそれ以外の *Bacillus* 属菌株と考えられる。*Lysinibacillus* 属菌株は約 10 の異なる系統に分かれている。現在までに記載されている *Lysinibacillus* 属は 5 種であることから、これらの菌株のなかには少なくとも 5 種の新種が存在している。*Lysinibacillus* 属以外の菌株はさまざまな系統に属すると考えられ、アルメニア微生物保管センターの同定が不十分であることを示している。今後は、これらの菌株について詳細な性状検査と生産する結晶性タンパク質の遺伝子構造の解明を行い、新種の記載などの学術論文を公表する予定である。

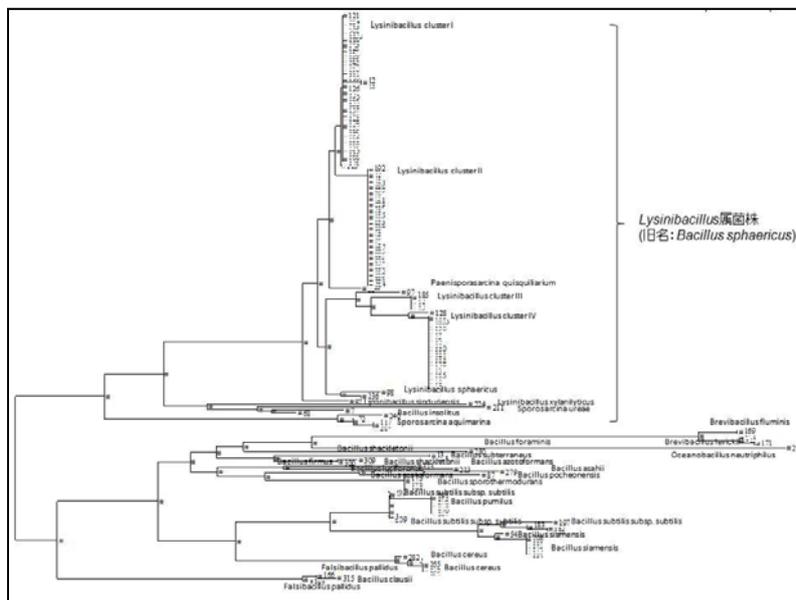


図 約 250 株の *Bacillus* 属菌株のリボソーム RNA 塩基配列に基づく系統関係 (約 400 塩基を解読)