

平成28年度 研究拠点形成事業（A. 先端拠点形成型）
中間評価資料（進捗状況報告書）

1. 概要

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		
日本側拠点機関名	国立大学法人山口大学		
コーディネーター 所属・職・氏名	創成科学研究科・教授・山田守		
相手国側	国名	拠点機関名	コーディネーター所属・職・氏名
	タイ	カセサート大学	理学部・准教授・Gunjana Theeragool
	ドイツ	ベルリンポイト工科大学	生命科学工学部・教授・Peter Goetz
	ベトナム	カントー大学	生物工学研究開発センター・Associate Professor・Dung Ngo Thi Phuong
	インドネシア	ブラビジャヤ大学	農学部・講師・Anton Muhibuddin
	ラオス	ラオス国立大学	理学部・准教授・Somchanh Bounphanmy

2. 研究交流目標

申請時に計画した目標と現時点における達成度について記入してください。

○申請時の研究交流目標

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。本申請事業では、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と期待される。同時に、若手研究者の育成や先端的分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。

○目標に対する達成度とその理由

上記目標に対する2カ年分の計画について、

十分に達成された

概ね達成された

ある程度達成された

ほとんど達成されなかった

【理由】

日本の28大学・1研究所101人、タイの25大学・2研究所128人、ベトナムの7大学・1研究所18人、ラオスの1大学10人、ドイツの1大学5人、インドネシアの7大学・1研究所30人、イギリス1大学4人が参加して、本拠点事業を継続している。

研究交流目標を達成するために、共同研究、セミナー、研究者交流を軸とし、本事業を進めている。

共同研究：申請書に5年間の共同研究スケジュールおよび5つの研究課題の国際共同研究による実施を計画した。計画に従って、5つの研究課題を68件の国際共同研究によって順調に進めている。

セミナー：「ジョイントセミナー」、「サテライトセミナー」、「若手研究者セミナー」、「ワークショップ」を計画した。計画に従って実施し、それぞれのセミナーの目的をほぼ達成した。

研究者交流：共同研究やセミナーにおける研究者派遣・受入等による研究者交流以外に、連携強化を図るためにコーディネーターによる交流を頻繁に行った。

特筆事項として、外部への情報発信のために、国際会議等でのシンポジウムやセミナーを開催した。また、共同研究論文発表や若手研究者育成を積極的に行っている。さらに、本事業と関連して、病原微生物関連の国際連携研究の1つがe-ASIA共同研究プログラム(e-ASIA JRP、JST)に採択され、発酵微生物関連の先端的低炭素技術開発事業(ALCA、JST)とともに、本事業と並行して実施している。

3. これまでの研究交流活動の進捗状況

(1) これまで(平成28年3月末まで)の研究交流活動について、「共同研究」、「セミナー」及び「研究者交流」の交流の形態ごとに、派遣及び受入の概要を記入してください。※各年度における派遣及び受入実績については、「中間評価資料(経費関係調書)」に記入してください。

○共同研究

【概要】

本事業の共同研究は、以下の5つの研究課題に分けて実施している。それぞれの課題は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ている。以下に、個々の共同研究テーマを示す。なお、一部の研究課題名については当初計画のものから変更している。

課題 1: Explorational Research of Useful Microbes

(有用微生物の探索研究)

本研究課題では、2つのサブ研究課題(有用微生物の探索、分離微生物及び生産物質の研究)に分け、それぞれ9件および8件(全17件)の共同研究(小研究課題)を実施した。

1. Screening of useful microorganisms (有用微生物の探索)

- 1) バイオ燃料および高付加価値物質を生産する熱帯性真菌の探索
- 2) 耐熱性エタノール生産性細菌の探索とその解析

- 3) 有用なエタノール生産性酵母の探索とその解析
- 4) 熱帯地域由来微生物の有用酵素の探索と機能解析
- 5) アジア熱帯地域からの薬物探索資源微生物の開拓
- 6) 耐熱性微生物が生産するマンナン分解系酵素によるココナッツコブラの分解
- 7) 有用な微生物および酵素のスクリーニングと解析
- 8) ポリヒドロキシ酪酸生産菌の単離と解析
- 9) 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

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ピレスロイド系農薬分解への応用
- 2) *Bacillus liquefaciens* 由来レバナーゼ及びプルラナーゼの遺伝子及び機能解析、4 α -glucanotransferase を用いたリグナンパイノレシノール配糖体の生合成とその抗酸化および抗炎症作用
- 3) 耐熱性酵母 *Candida easanensis* の β -グルコシダーゼの遺伝子解析
- 4) 各種ストレス曝露条件における耐熱性酵母の性質に関する研究
- 5) 高付加価値物質を生産する酵母の遺伝子工学的開発
- 6) タイ国で分離したマリン酵母をもちいた抗酸化能をもったライスワインの試醸
- 7) 微生物の生産する生理活性物質の探索
- 8) 熱帯・亜熱帯地域からの黒麹菌の単離と応用

課題 2 : Genome-based Research on Thermotolerant Microbes

(ゲノム情報に基づく耐熱性微生物研究)

本研究課題では、8件の共同研究（小研究課題）を実施した。

- 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
- 2) 耐熱性エタノール生産性細菌 *Zymomonas* 属菌の分布調査と高温適応の分子機構
- 3) 耐熱性酢酸菌による高温酢酸発酵系の開発
- 4) 耐熱性コリネ型細菌によるグルタミン酸発酵
- 5) 耐熱性 *Gluconobacter* の耐熱性機構の解析とその応用
- 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
- 7) 原始紅藻類の環境適応機構の解析と物質生産に向けた基礎研究
- 8) 耐熱性分裂酵母 *Schizosaccharomyces japonicus* の有効利用

課題 3 : Research on Environmental Microbes Sustaining Tropical Ecosystem

(熱帯性生態系を維持する環境微生物の研究)

本研究課題では、12件の共同研究（小研究課題）を実施した。

- 1) アジアにおける感染症の疫学的解析
- 2) メタノール資化性微生物による有用物質生産と植物生長促進

- 3) 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
- 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
- 5) 納豆菌ガンマポリグルタミン酸(PGA)によるカドミウム障害イネの生育回復と納豆菌(PGA生産菌)とイネとの相互作用におけるPGAの役割に関する研究
- 6) 植物-微生物間相互作用に関する新規二次代謝産物と耐熱性緑藻による機能性脂質生産の解析
- 7) アジア人の腸内フローラ等の大量並列DNAシーケンス解析
- 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
- 9) 植物共生細菌の多様性解析とその応用
- 10) 熱帯地域の主要植物細菌性病害の宿主病原体相互作用の解析と生物防除
- 11) 熱帯アジアにおけるシロアリ類の分類および多様性に関する研究
- 12) 微小および大型藻類における脂肪酸分解由来の香気成分に関する研究

**課題 4 : Research on Microbes Useful for Food, Food Preservation, Health and Ecosystem
(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)**

本研究課題では、18件の共同研究(小研究課題)を実施した。

- 1) 熱帯性植物からの担子菌類の単離とその応用
- 2) アーバスキュラー菌根菌とリン可溶化細菌の同時接種によるアーティチョーク成長ホルモン組成への影響
- 3) 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
- 4) 植物内生放線菌の農業への応用
- 5) ポリ乳酸分解微生物の探索と応用
- 6) 耐熱性ラン藻由来の熱安定性物質の応用
- 7) Staphylococcus 属細菌によるベンゾニトリルの生分解に関わるタンパク質の同定
- 8) カイコ発現系を用いた Dengue 熱ワクチンの開発及び有効性試験に関する研究
- 9) 微生物を用いたバイオマス資源の環境保全型利用・重金属処理に関する研究
- 10) 生理活性天然有機化合物の生物変換
- 11) 熱帯微生物を活用した有益なバイオフィームおよびバイオサーファクタントの開発
- 12) 新奇バクテリオシン生産乳酸菌の探索とその利用
- 13) 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
- 14) ベトナムの餅麴メンから分離した発酵性酵母をもちいたアルコール飲料の特性
- 15) *Gluconobacter* を用いた有用糖類の酸化発酵と酢酸菌・乳酸菌における多糖の役割
- 16) 出芽酵母と分裂酵母における、タンパク質発現量の限界測定とその異種タンパク質産生への応用
- 17) 微生物の細胞壁溶解酵素の植物病原性糸状菌の防除への応用
- 18) 発酵乳中からの乳酸菌および乳酸菌ファージの単離と特性解析

**課題 5 : Development of Next-generation Fermentation Technology for New Wave Industry
(新規産業のための次世代発酵技術の構築)**

本研究課題では、13件の共同研究（小研究課題）を実施した。

- 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
- 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
- 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
- 4) 餅麴ルパン (*Amylomyces rouxii* YTH3) と酵母の混合培養により醸造した有色米酒の抗酸化能について
- 5) 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
- 6) オイルパーム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
- 7) 植物性バイオマスの熱帯性微生物による環境・バイオテクノロジーのための有用生産物の開発
- 8) ネピアグラス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開発
- 9) 高温嫌気性発酵下における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ハイタン（水素+メタン）生産
- 10) 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（水素+メタン）生産の促進
- 11) 再生可能資源を原料とした有用化成品の発酵生産
- 12) 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
- 13) 耐熱性真菌によるペクチナーゼ生産の最適化

○ セミナー

	平成26年度	平成27年度
国内開催	1回	2回
海外開催	2回	2回
合計	3回	4回

【概要】

[平成26年度]

第1回サテライトセミナーを平成26年8月7～8日にインドネシアで開催した。計画にはなかったが、インドネシアのコーディネーターがサテライトセミナーの前日に講演会を開催し、現地の大学関係者や企業関係者など約100名に対して、これまでの国際拠点事業実績や本事業内容を紹介した。第1回サテライトセミナーでは、インドネシアのメンバーに対して本事業の研究内容を再度紹介するとともに、幾つかの先行している小課題研究の成果報告、共同研究者間の交流や研究施設の視察等を行った。また、本事業の全体会議となる第1回ジョイントセミナーを8月10～11日にバンコクで開催した。NRCTの図らいで Thailand Research EXP02014 の中で開催され、本事業の広報にもなった。5つの課題からそれぞれ3～5題の研究成果を口頭発表するとともに、個々の共同研究グループでの研究打ち合わせも同時に行うことができた。加えて、事業全体の方向性を確認することも含めて、NRCT 幹部も交え第2回コーディネーター会議を開催した。また、11月に開催した第10回若手研究者セミナーに、タイ（滞在費等別経費）・ベトナム・インドネシアのコーディネーターとラオス国立大学のメンバーが参加したことから、当初平成27年3月に計画していた第3回コーディネーター会議を繰り上げて開催し、平成27年度計画について討議した。

[平成27年度]

平成 27 年 7 月 29～30 日にコンケン(タイ)で開催された第 5 回国際発酵会議において、本事業に関する分科会(セミナー)を主催し、発酵関連の 15 題の研究発表を行った。この機会に、組織委員会で平成 27 年度事業計画を確認するとともに、詳細な計画案を協議し、決定した。8 月 18 日に Thailand Research EXP02014 (バンコク)において、本事業と課題 3 関連の e-ASIA JRP の合同で分科会を開催した。本事業関連で 11 題、e-ASIA JRP 関連で 4 題の発表を行った。同時に、タイ・日本のコーディネーター間で研究交流等について相談した。また、11 月 12～13 日に日本(福岡市)で第 2 回サテライトセミナーを開催した。申請計画ではラオスでの開催であったが、ラオスの都合により日本での開催となり、先端的研究を中心とした国際シンポジウムとして実施し、18 題の口頭発表と 19 題のポスター発表を行った。この機会に組織委員会を開催し、平成 28 年度計画について討議した。また、JSPS から笹川 綾香課長と村山 依利紗係員(JSPS 国際事業部研究協力第一課)の参加をいただき、併せて本事業に関して意見交換を行った。11 月に開催した第 11 回若手研究者セミナー時に、タイ・ベトナムのコーディネーターと本事業について相談した。

○研究者交流

【概要】

[平成 26 年度]

研究者派遣総数(それぞれの国から他国への派遣)は、事業全体で 91 件、その内、日本側への派遣の多く(30 件)は若手研究者であった。より多くの交流の機会確保のために日本での滞在支援期間を最大 30 日としたが、受け入れ研究者が他の予算と合算して、より長期の滞在を行った場合もあった。共同研究者間の連絡は通常 e-mail で行われているが、第一回ジョイントセミナーにおいて直接打ち合わせする機会が得られた。最初のコーディネーター会議は山口大学で開催し、その後のコーディネーター会議はセミナー時に開催した。欧州との連携強化のために、日本側コーディネーターがベルリンポイト工科大学とマンチェスター大学を訪問し、本事業や共同研究についての意見交換や施設見学を行った。

[平成 27 年度]

研究者派遣総数は、事業全体で 79 件、その内、日本側への若手研究者の派遣数は 50 件であった。ジョイントセミナーが開催されない年度であったことから、日本側に前年度より多くの研究者を受け入れた。タイ側コーディネーターが日本の研究者とともにドイツ・イギリスの関連大学を訪問し、本事業に関する意見交換を行うとともに、共同研究の打ち合わせや施設見学等を行った。

(2)(1)の研究交流活動を通じて、申請時の計画がどの程度進展したか、「学術的側面」、「若手研究者の育成」、及び「研究教育拠点の構築」の観点から記入してください。

○学術的側面

課題 1: Explorational Research of Useful Microbes

(有用微生物の探索研究)

[平成 26 年度]

初年度に本課題に関連して、以下の微生物を単離した。①エタノール生産性耐熱性細菌、②タイの伝統的アルコール飲料の生産に用いられているスターターに含まれる細菌・酵母・糸状菌、③耐熱性マンナナーゼ高生産菌 (*Bacillus* sp.)、④タイの水産発酵食品(プラ・ソム)に含まれる有用発酵細菌、⑤

シャロット乾腐病の原因菌 *Fusarium oxysporum* に対してきわめて強い抗菌作用をもつ拮抗細菌などである。また、① *Thermobifida alba* AHK119由来の組換えカルボキシエステラーゼ (Ca119) の発現・精製条件の確立、②耐熱性マンナーゼ高生産菌 (*Bacillus* sp.) が生産するマンナーゼ (ManS2) の諸性質および本酵素をコードする遺伝子クローニング、③ *Corynebacterium glutamicum*由来のアミロマルターゼの変異酵素の発現、④ *Bacillus amyloliquifaciens* のレバンスクララーゼ遺伝子の大腸菌での発現、⑤組換えレバンスクララーゼの糖転移反応で生成したフルクトオリゴ糖の構造解析、⑥タイで単離された耐熱性酵母 *Candida easanensis* strain JK-8が生産する β -グルコシダーゼの精製、⑦ヒト疾患の治療薬シーズの開発のための細胞モデル系の構築など今後の研究展開に重要な成果を得た。

[平成27年度]

引き続き、以下の微生物種の分離さらにはそれらの同定が行われた。①ベトナム、ラオスおよびインドネシアからエタノール生産性酵母の分離・同定、②アブラヤシおよびパラゴムノキ病原菌に対する拮抗放線菌の分離、③非培養法によるアルコール飲料生産スターター微生物叢の同定、④タイの発酵食品に含まれる乳酸菌群の単離同定、などである。加えて、①バイオ燃料および高付加価値物質を生産する熱帯性真菌の同定法の確立、②タイで分離した希少放線菌が生産する二種類の新規化合物の構造決定、③耐熱性微生物の遺伝子組換えエンド-マンナーゼ (rManS2) の性状解明、④ポリヒドロキシ酪酸生産菌によるポリヒドロキシ酪酸および3-ヒドロキシペンタン酸とのコポリマーの生成条件の解明、⑤ *Thermobifida alba* AHK119由来のクチナーゼ Est1 のポリエステル分解機構の解明、⑥ *Bacillus amyloliquefaciens* の組換えレバナーゼの生産、⑦高温培養における耐熱性放線菌の二次代謝産物生成能の変化などについての研究成果も得られた。また、ベトナム、ラオスおよびインドネシアから分離したエタノール生産性酵母について、あるいは醸造酵母の高温および放射線ストレス応答機構に関して論文発表を行った。

課題 2: Genome-based Research on Thermotolerant Microbes

(ゲノム情報に基づく耐熱性微生物研究)

[平成26年度]

耐熱性微生物(酵母・バクテリア)のストレス耐性化やさらなる耐熱化を実験室進化的に行い、その際に生じた変異をゲノムワイド解析するという手法で成果があがっている。この解析に基づいて「活性酸素除去」が耐熱性付与の一つの方法であることを複数の微生物で証明し、共同で特許出願を行った。また、ゲノムワイド解析だけでなく、新しい生物資源の探索においても成果が得られている。

別の側面として、酵母を用いた交配育種による耐熱性因子の特定方法の構築も進んだ。この成果を元にすると様々な酵母株を短期間で育種することが可能になる。極限環境藻類に関しては、窒素欠乏を引き金に油脂生産が向上することが知られていたが、窒素欠乏に依らない新たなバイオマス生産の誘導条件を見いだした。さらに、その時に発現量が変動する遺伝子群をRNA-seqにより明らかにし、その新しい誘導を司る遺伝子の候補を複数選抜した。

[平成27年度]

耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* の完全ゲノム解析とトランスクリプトーム解析の発表が大きな学術的成果といえる。加えて、*K. marxianus* にグルコースと同時に五炭糖を消費させようとする試み(グルコース抑制の解除)もゲノムワイドに進められ、順調に成果が上がってきている。今後の応用展開のみならず、グルコース抑制の分子レベルの解明が期待できる。耐熱化育種の方では、エタノール生産性

Zymomonas と酢酸菌において耐熱性を支配する遺伝子がゲノムワイドに調査され、関連遺伝子の特定とその機能解析が行われた。単なる関連遺伝子のリスト化に留まらず、表現型の解析や具体的な耐熱化機構の解明へ向けた試みが進められている。また、耐熱性酵母においても、耐熱性因子を交配育種によって 29 遺伝子まで絞り込むことができている。

課題 3: Research on Environmental Microbes Sustaining Tropical Ecosystem

(熱帯性生態系を維持する環境微生物の研究)

[平成 26 年度]

初年度では、以下の研究成果が得られている。①タイの伴侶動物であるイヌとネコの血清を回収して E 型肝炎ウイルスの感染を確認できた。②日本脳炎ウイルス、猫コロナウイルス、重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染状況も調査を実施した。③クロロアニリン分解細菌 *Pseudomonas fluorescens* がクロロアニリン走化性を示すことを見出し、クロロアニリン感知の分子機構に関する知見を得ることに成功した。④内生放線菌分離株の一つから新規化合物を発見し、癌細胞の浸潤阻害活性および前駆脂肪細胞の分化誘導活性などの生理活性をもつことを明らかにした。⑤根圏放線菌分離株の一つが二種類の新規化合物を生産し、それらが血管新生を阻害することを明らかにした。⑥タイおよびインドネシアに暮らす人々約 150 名の腸内フローラ（糞便細菌叢）を次世代シーケンサー等の技術を用いてプロファイル化することができた。

[平成 27 年度]

引き続き、27 年度は以下の成果を得ている。①日本・フィリピン・タイ・インドネシア・アメリカにおける感染症ネットワークの形成に成功した。②タイで分離したメタノール資化性微生物の新種を発表した。また、メタノール資化性微生物が利用する栄養源と酵母メタノール誘導性遺伝子発現を制御する転写制御因子の分子機能を解明した。③ *P. aeruginosa* のクロロアニリンの走化性センサー、*P. fluorescens* のアミノ酸走化性センサーと有機酸走化性センサー、*R. solanacearum* のアミノ酸走化性センサーと有機酸走化性センサーを特定した。このうち有機酸走化性センサーは植物感染に関与することが明らかになった。④タイおよびインドネシア人の腸内細菌叢データを得るために、引き続き次世代シーケンサーによる大量配列解析を行っている。⑤PGA 添加による Cd 障害イネの生育回復が観察された。また、Cd 汚染水田の土壌から PGA 分解酵素を生産する優良菌を取得した。⑥分離された糸状菌によってパラコートが最大 60%除去できることが明らかとなった。⑦植物共生細菌の多様性解析のために、ラベルした株の作製に成功した。⑧生物防除資材候補菌株および拮抗される植物病原細菌の分類学的位置付けを明確にした。⑨タイで単離された *Muscodor* がタンジェリンオレンジ貯蔵中の *Penicillium* による劣化を抑制することが明らかになった。

課題 4: Research on Microbes Useful for Food, Food Preservation, Health and Ecosystem

(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)

[平成 26 年度]

初年度に本課題に関連する微生物資源を複数単離した。それらは、BCG 脱色オリゴ糖産生土壌細菌 (*Bacillus licheniformis*)、ベトナム餅麴メン由来 *Saccharomyces cerevisiae* Y3 酵母、タイ壺酒「ウ」由来 *S. cerevisiae* NP01、新規ベニコウジカビ (*Monascus* sp.)、タイ自生新種キノコ *Clitopilus* sp.、新規バイオサーファクタント高生産菌 (*Aureobasidium* 属酵母)、アミド・ニトリル化合物分解菌

(*Bacillus* 属細菌)、タイ発酵乳由来耐熱性乳酸菌 *Lactobacillus paracasei* および本菌株を宿主とする耐熱性バクテリオファージ φT25 などであり、本課題の推進に適した多彩な生理機能が期待できる多彩なリソースである。これら単離された微生物資源から新規機能としてタイ伝統発酵食品 Kapi Ta Dam に抗酸化活性と ACE 阻害活性を見出し、野生イネを原料に今回単離した K7 酵母とスミチームを用いたアルコール飲料試醸にも成功した。特筆すべきことにこの飲料には高い脂質過酸化阻止能が見いだされた。他にも新規ベニコウジカビ (*Monascus* sp.) のフェニルエチルアルコール等の香気成分生成能、タイ北部キノコ新種 *Glitopilus* sp. 菌糸に高い抗菌活性、イチゴ内生菌のシデロフォアによらない植物成長促進効果原因物質などを発見した。これら生理活性化合物群については平成 27 年度以降の検討により単離構造決定を進めている。関連遺伝子として *Fusarium* sp. F59 から 2 種のグルコアミラーゼ遺伝子をクローニングし、*Corynebacterium glutamicum* 由来のアミロマルターゼ遺伝子への変異導入により、機能性の異なる変異酵素遺伝子を取得した。次世代シークエンスにより耐熱性バクテリオファージ φT25 ゲノム構造を解析した。このように微生物資源の獲得、生理活性の発見、さらに応用を目的とした遺伝子単離とその発現制御機構の解明を進めており、着実に成果が蓄積しつつある。

[平成 27 年度]

平成 27 年度には着実に成果をまとめることができ、多くの学術論文発表や国際会議での発表等に繋がった。具体的には、26 年度時単離し、ゲノム構造を確定した乳酸菌ファージ φT25 に耐性の乳酸菌の単離に成功し、その耐性機構を解明することで乳酸発酵中での乳酸菌死滅事故を抑制できる新技術の創成が期待できる。また、 Deng 熱ワクチン用ハプテン合成にほぼ成功し、実質的なワクチン生産へ向けた端緒を得た。また、これまでの共同研究で複数のバクテリオシンを発見し実用化へ向けた開発研究を進めているが、今年度は新たに単離した乳酸菌の 1 種から新奇バクテリオシンを発見した。その一方で、これまでに開発した土壌最適環境条件を畑、水田、果樹園などの実際の農業現場で試行し、実証データを多く得た。この成果をもとに 28 年度は土壌環境評価体系を確立することが可能になると考えている。その他にも機能性のある微生物生産物として、ラウリル硫酸ナトリウム耐性グルカナーゼ、タイ発酵食品製造副産物の新規機能性素材、放線菌の生産するトマト根こぶ線虫防除化合物、新規バイオサーファクタントなどを得ており、本課題で単離された耐熱性微生物群には未だ多くの機能性化合物が存在し、いわば新規活性物質の宝庫と言えることが再認識できている。また、より有効な食品発酵生産に関しては、ベトナム伝統発酵食品中の菌のアルコール発酵能、*Gluconobacter* による希少糖生産系、*Monascus* によるエタノール発酵などの検討を進め、それぞれ、既存の微生物と遜色ない能力を有していることが明となった。また、実際の農業現場で単離微生物を利用するための開発研究も進め、タイ北部森林担子菌から新規抗菌物質の生成分泌を確認し、AM 菌根菌と細菌の同時接種による作物生産促進効果を確認した。今後は、活性物質の精製と構造決定をより精力的に進め、更にはその作用機作を明らかにする研究に、より注力する必要がある。

課題 5 : Development of Next-generation Fermentation Technology for New Wave Industry
(新規産業のための次世代発酵技術の構築)

[平成 26 年度]

次世代発酵技術の開発に向けて様々なステージの共同研究 14 テーマがスタートした。耐熱微生物を用いたバイオエタノールやバイオ水素等、バイオ燃料の高温発酵系での生産に関して、非食性あるいは未利用バイオマスを用いたラボスケール及びパイロットスケールの発酵試験が行われ、糖化条件や発酵

条件に関して、今後最適化等を進めるための基礎的なデータが得られた。例えば、耐熱性酵母を用いたパイロットスケール発酵試験では生産性を上げるための課題が明確になり、バイオハイトン生産では生産効率改善が進んだ。耐熱性酵母を用いた、酵素処理非可食米からのエタノール生産の評価も実施された。独自に開発したザイモモナス菌株を用いたエタノール生産では 40℃で 10%グルコースからのエタノール生産が可能であることを示した。バイオポリマー材料の発酵生産についても、発酵条件設定や副産物抑制試験が実施された。また、1,3-ブタンジオールから 1-ブタノールへの合成経路の拡張に成功した。新規微生物あるいは酵素を用いた物質生産のための研究では、発酵食品や機能性糖の生産に有効な糖質関連酵素生産菌が新たに得られ、生産の基盤が整った。酵素のスクリーニングにおいては、耐塩性プロテアーゼ生産菌の獲得、リパーゼおよびキシラナーゼの精製に成功した。ほとんどの小課題で、当初予定していた方向で研究が進展した。

[平成 27 年度]

高温エタノール発酵に関して、ザイモモナス耐熱化菌株を用いて、高温発酵と減圧蒸留を組み合わせ、回収エタノールが最大 60%に達した。タイのバイオマス資源を原料とする、エタノール生産のための新たに複数の耐熱性酵母の分離に成功し、これらを用いて発酵の最適条件を決定できた。さらには 10 kLパイロットスケール高温エタノール発酵試験において、冷凍機を用いない冷却設備でも、耐熱性酵母を用いることで 40℃での安定なエタノール発酵に成功した。有用酵素の開発では、有用な糖質関連酵素生産微生物を同定し、その菌株から遺伝子クローニング、酵素の特徴づけができた。また、*Bacillus* sp. No. 16 株の耐塩性プロテアーゼと、耐熱性 *Streptomyces* 属放線菌の生産するキシラナーゼとリパーゼの特性を明らかにした。タイ国から分離した耐熱性ペクチナーゼ高生産 *Aspergillus* sp. TPG-01 株が、中温株には難しい 40℃発酵でも、30℃発酵を超える酵素生産性を示すことが明らかとなった。ハイトン（水素＋メタン）などのバイオ燃料生産では、固定化高温菌の利用や前処理の加速、基礎的発酵条件や酵素生産条件の最適化が進んでいる。また、リグノセルロース加水分解物からの生産時の問題を解決できる可能性を持つ高塩分濃度耐性菌を得た。組換え大腸菌を用いた 1-ブタノール生産では、中枢代謝を活性化できると期待されるピルビン酸脱水素酵素複合体転写因子の破壊により、大幅な生産性の向上が観察された。餅麴ルパンと酵母の混合培養により醸造した有色米酒の抗酸化能を評価した。

○若手研究者の育成

若手研究者育成は主に以下の項目に示すように実施してきた。

- 1) 若手研究者セミナー：アジア研究教育拠点事業から継続実施している。現在では参加者 100 名規模で、その内 4 割以上が海外若手研究者や留学生である。大学院学生が中心となって企画・運営・開催し、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スタイルであり、学会開催のノウハウの取得や海外とのネットワーク形成にも繋がるものと期待される。
- 2) 先導の拠点事業で指導し、学位を取得した若手研究者を、本事業のカウンターパートとして受け入れ、共同研究の中で、研究指導を行った。また、日本の研究者が派遣先で若手研究者や学生の研究指導等を行ってきた。
- 3) 日本の奨学金に加えて、参加大学の奨学金（タイの RGJ、インドネシアの DIKTI）等を利用して留学生を受け入れてきた。また、タイやインドネシアの博士課程学生の学位論文研究の Co-Advisor として、指導や学位論文の審査委員を行っている。
- 4) 本事業参加大学との学生相互派遣：派遣先では、学生は派遣先の学生と交流するとともに、派遣先

の受け入れ研究者からの研究指導やディスカッションとともに、セミナーに参加し、英語による研究成果発表を行った。

若手研究者および学生の受け入れ実績を表1と表2に示す。なお、本事業メンバーの研究者が来日時に日本人学生を指導した場合（表の*印）もそれぞれの表に加えている。

表1 平成26年度の若手研究者を含む研究者および学生の受け入れ

課題	研究者受入(共同研究)			学生受入れ(研究指導)				
	研究者	大学	受入大学	学生	指導者	大学	受入	
課題1	Kannikar haroensuk	Rajamangala, Tawan-Ok	山口大・農	修士学生1名	Chulee Yompakdee	Chulalongkom	山口大・工	赤田
	Kaewta Sootsuwan	Rajamangara, Isan	同上	修士学生1名	Savitree Limtong	Kasetsart	山口大・農	山田
	*A rinthip Thamchaipenet	Kasetsart	富山県大	大学院生1名	Dung Ngo Thi Phuong	Can Tho	同上	同上
	Jantapom Thongekkaew	Ubon Ratchathani	広大・院	大学院生1名	Anton Muhibuddin	Brawijaya	同上	同上
	*Wasana Sukhumsirichart	Srinakharinwirot	大阪府大	修士学生1名	Wasana Sukhumsirichart	Srinakharinwirot	大阪府大	坂本
	Thida Chawangsi	Univ. of Phayao	石川県大	修士学生1名	Supot Kasem	Kasetsart	山口大・農	伊藤
	*Vichai Leelavatcharamas	Khon Kaen	大阪府大	学部学生2名	Anton Muhibuddin	Brawijaya	同上	山田
	*Ramida Watanapokasin	Srinakharinwirot	慶應・理工					
	Ushara Thumarat	Prince of Sonkla	京都工繊					
	Kuakarun Krusong	Chulalongkom	明治大・農					
課題2	*Gunjana Theeragool	Kasetsart	山口大・農	修士学生1名	Gunjana Theeragool	Kasetsart	山口大・農	薬師
	Kamonchai Cha-aim	Srinakharinwirot	山口大・工	修士学生1名	Hunyh Xuan Phong	Can Tho	同上	同上
	Noppon Lertwattanaskul	Kasetsart	山口大・農	修士学生1名	Nawarat Nantapong	Suranaree	同上	松下
				修士学生1名	Pomthap Thanonkeo	Khon Kaen	同上	高坂
				修士学生1名	Ramida Watanapokasin	Srinakharinwirot	山口大・工	星田
課題3	Kangsadan Boonprab	Kasetsart	山口大・農	修士学生1名	Sunee Nitisinprasert	Kasetsart	九大・農	中山
	*Sunee Nitisinprasert	Kasetsart	九大・農	修士学生2名	Saisamorn Lumyong	Chiang Mai	山口大・農	松井
	*Worawut							
	Rerkamnuaychoke	Kasetsart	山大・獣医					
課題4	Chartchai Khanongnuch	Chiang Mai	香川大・農	修士学生1名	Chartchai Khanongnuch	Chiang Mai	香川大・農	高田
	Kamontip Kuttiyawong	Kasetsart	大阪市大	修士学生2名	Saowanit Tongpim	Khon Kaen	九大・農	酒井
	Montri Yasawong	Mahidol	山口大・農					
	Sukhumapom Krajangsang	Srinakharinwirot	静岡大・農					
	Pairat Somplang	Khon Kaen	九大・農					
	Chayakom Pumas	Chiang Mai	東大・農					
	Onanong Pringsulaka	Srinakharinwirot	九大・農					
Wasu Pathom-Aree	Chiang Mai	静岡大・農						
課題5	Thanongsak Chaiyaso	Chiang Mai	神戸大・農	修士学生1名	Sanom Ruamsuk	Ubon Ratchathani	山口大・工	星田
	Prapaipid							
	Chairattanamanokom	Kasetsart	山口大・工	修士学生1名	Alissara Reungsang	Khon Kaen	同上	今井
	*Thalisa Yuwa-amompitak	Mahaasarakham	崇城大・工	学部学生1名	Alisa Vangnai	Chulalongkom	山口大・農	片岡
				修士学生1名	Sehanat Prasongsuk	Chulalongkom	山口大・工	今井
			修士学生1名	Sompong O-Thong	Thaksin	同上	同上	

名前の前に*印が記載されている研究者は若手指導も含めて来日した。

表2 平成27年度の若手研究者を含む研究者および学生の受け入れ

課題	研究者受入(共同研究)			学生受入れ(研究指導)				
	研究者	大学	受入大学	学生	指導者	大学	受入	
課題1	Kaewta Sootsuwan	Rajamangara, Isan	山口大・農	ポスドク1名	Sehanat Prasongsuk	Chulalongkom	山口大・工	赤田
	Anurag Sunpapao	Prince of Sonkla	同上	修士学生1名	Pichapak Sriyapai	Srinakharinwirot	静岡大・工	金原
	Jarunee Kaulpiboon	Tammasart	明治大・農	修士学生1名	Kuakarun Krusong	Chulalongkom	明治大・農	村上
	Jantapom Thongekkaew	Ubon Ratchathani	広大・院	修士学生1名	Pimchai Chaiyen	Mahidol	富山県大	浅野
	Sehanat Prasongsuk	Chulalongkom	山口大・工	修士学生2名	Pimchai Chaiyen	Mahidol	同上	同上
	Uschara Thumarat	Prince of Sonkla	京工繊	修士学生1名	Savit Trakunareamsai	Kasetsart	山口大・農	片岡
	Santhana Nakapong	Ramkhamhaeng	大阪市大	修士学生1名	Supot Kasem	Kasetsart	同上	伊藤
	Thida Chawangsi	Univ. of Phayao	石川県大	修士学生1名	Pornthap Thanonkeo	Khon Kaen	同上	井内
	Pichapak Sriyapai	Srinakharinwirot	静岡大・工	修士学生1名	Anton Muhibuddin	Brawijaya	同上	山田
	*Vichai Leelavatcharamas	Khon Kaen	山口大・農	修士学生1名	Dung Ngo ThiPhuong	Can Tho	同上	山田
	*Wasana Sukhumsirichart	Srinakharinwirot	大阪府大					
	Chayaphon Sriphannam	Naresuan	石川県大					
	*Pimchai Chaiyen	Mahidol	富山県大					
*Arinthip Thamchaiyenet	Kasetsart	同上						
課題2	Noppon Lertwattanasakul	Kasetsart	山口大・農	修士学生1名	Pornthap Thanonkeo	Khon Kaen	山口大・農	山田
	Nawarat Nantapong	Suranaree	同上	修士学生1名	Gunjana Theeragool	Kasetsart	同上	薬師
	Wichai Soemphol	Khon Kaen	琉球大・農	修士学生1名	Savitree Limtong	Kasetsart	同上	高坂
	*Gunjana Theeragool	Kasetsart	山口大・農					
	Nadchanok Rodrussamee	Chiang Mai	同上					
課題3	Duenrut Chonudomkul	Kasetsart	富山県大	修士学生1名	Alisa Vangnai	Chulalongkom	広島大・院	加藤
	Orawan Chunhachart	Kasetsart	静岡大・農	修士学生1名	Jantana Praaboon	Kasetsart	山口大・農	赤壁
	Supot Kasem	Kasetsart	同上					
	Massalm Nakphaichit	Kasetsart	九大・農					
	Pairote Wongputtisin	Maejo	京大・農					
	*Alisa Vangnai	Chulalongkom	広大・院					
Jantana Praaboon	Kasetsart	山口大・農						
課題4	*Jirapom Thaniyavam	Chulalongkom	北大・農	修士学生1名	Sasmito Djati	Brawijaya	立命館	久保
	Panarat Arunrattiyakorn	Srinakharinwirot	岡山大・農	修士学生1名	同上	同上	同上	同上
	Pattana Kakumyan	Mae Fah Luan	山口大・農	修士学生2名	Wasu Pathom-Aree	Chiang Mai	同上	同上
	Chayakom Pumas	Chiang Mai	東大・農	修士学生1名	Saisamom Lumyong	同上	山口大・農	松井
	Wasu Pathom-Aree	Chiang Mai	静岡大・農	修士学生1名	Jiraporn Thaniyavam	Chulalongkom	北大・農	森川
	*Vichien Kitpreechavanich	Kasetsart	九大・農	修士学生1名	Wasu Pathom-Aree	Chiang Mai	立命館	若山
	Onanong Pringsulaka	Kasetsart	同上	修士学生1名	Wasu Pathom-Aree	Chiang Mai	同上	同上
	*Worapot Suntomsuk	King Mongkut's Thonburi	琉球大・農	修士学生1名	Onanong Pringsulaka	Srinakharinwirot	九大・農	土居
	Adisom Swetwivathana	King Mongkut's Radkrabang	九大・農	修士学生1名	Kangsadan Boonprab	Kasetsart	山口大・農	松井
課題5	Apilak Salakkam	Khon Kaen	愛媛大・農	修士学生1名	Chartchai Khanongnuch	Chiang Mai	香川大・農	高田
	Thanongsak Chaiyasao	Chiang Mai	神戸大・農	修士学生1名	Alissara Reungsang	Khon Kaen	山口大・工	今井
	Sanom Ruamsuk	Ubon Ratchathani	山口大・工	修士学生1名	Sompong O-Thong	Thaksin	同上	同上
	Sompong O-Thong	Thaksin	同上	修士学生1名	Alisa Vangnai	Chulalongkom	同上	片岡
	*Hunsa Punnapayak	Chulalongkom	同上					
	*Alissara Reungsang	Khon Kaen	同上					
	Chartchai Khanongnuch	Chiang Mai	香川大・農					
	Prapaipid	Kasetsart	山口大・工					
Charattananomkom	Kasetsart	山口大・工						

名前の前に*印が記載されている研究者は若手指導も含めて来日した。

○研究教育拠点の構築

先導の拠点大学交流事業（平成 10-19 年度）では日本とタイの 2 カ国、アジア研究教育拠点事業（平成 20-24 年度）ではさらにベトナムとラオスを加えて 4 カ国、本事業ではさらにドイツ、インドネシア、イギリスを加えて 7 カ国によって、熱帯性環境微生物資源（遺伝資源）開発に関する国際連携を進展させ、最新の解析技術を取り入れた熱帯性環境微生物の潜在能力や環境適応に関する基盤的研究から次世代型省エネ技術を含めた革新技術の開発研究などをすすめ、多くの先導的研究成果を挙げてきている。

特に、これまで「耐熱性微生物」「耐熱性遺伝子」「耐熱化と高温適応」「高温発酵」など新領域を切り開くと同時に新たな技術開発を進め、国際的にも高い評価を受けつつある。本事業では、ドイツやイギリスの研究者も加わり、より世界的な拠点形成を進めている。特に、これまで開発を進めてきた高温発酵等の新しい技術を、ドイツやイギリスの研究者の代謝工学やプロセス工学の知識や技術を生かして、より実用的な技術に改良するために共同研究を進めている。一方、基礎的研究は、有用な常温性微生物の耐熱化や地球温暖化に伴う生態変動予測、あるいは生態系での微生物の生活環境など微生物学の新たな展開が期待される。もちろん、無尽蔵にある微生物資源の活用のために弛まない有用微生物の探索研究が今後も望まれる。

生物多様性条約の拡大を見据えて、ASEAN 諸国においても有用な微生物資源を自国で確保する必要があるが、本事業等で獲得した知識や技術は参加研究者によってそれぞれの母国で生かされると期待される。本事業では 75 研究機関から約 300 名の研究者が参加し、ネットワークが拡大しつつある。一方で、我が国を中心としたネットワークの構築は、友好関係の醸成だけでなく、アクセスが難しくなる熱帯性環境微生物資源に対しても共同研究を通じて利用が可能となることから、この事業活動の重要性が伺える。

確固たる国際拠点形成には、参加国がお互いにメリットがあることが不可欠となる。本事業は微生物の共同開発だけでなく、人材育成を含めた教育にも貢献している。微生物を対象とした研究は、簡易な装置や入手が容易な試薬で実施できることから比較的安価で発展途上国に適したものである。また、微生物研究は、ほとんどの生物学研究分野の基礎となることから、発展途上国の将来に向けた教育研究に最適である。特に、若手研究者交流セミナーは、日本人学生を含めた若手研究者の体験の場を提供するとともに、継続的な国際ネットワークの構築の場ともなる。現在では毎年 100 名規模で、外国人若手研究者が 4 割を超えている。

このような教育連携を進展させ、国際教育連携の構築を模索している。特に、ASEAN の本事業関係国から優秀な学生の我が国への留学を促すために、JASSO 等の支援を受けて短期の受け入れや日本人学生との双方向の交流を進めている。それらの学生も若手研究者交流セミナーに参加して、交流の輪を広げている。国際教育連携の実質化のために、教員交流やジョイントディグリー制度の構築に向けて活動を行っている。このようにして育成された人材によって、本研究教育拠点がさらに拡大されると期待している。

4. 事業の実施体制

本事業を実施する上での、「日本側拠点機関の実施体制」、「相手国拠点機関との協力体制」、及び「日本側拠点機関の事務支援体制」について記入してください。

○日本側拠点機関の実施体制（拠点機関としての役割・国内の協力機関との協力体制等）

拠点機関である山口大学に運営委員会を設置し、コーディネーター、副コーディネーターを中心に本事業の計画運営を実行している。共同研究や研究者交流事業では、5つの研究課題を実施するためにそれぞれにリーダーとサブリーダーを置いている。これによって研究計画を練り、研究成果を把握しながら本事業を実施している。各種セミナーの運営や発表者の選抜は、各国の同様な運営委員会と協議して決定している。全体の運営委員会やコーディネーター会議をセミナー等の機会に実施し、運営計画の決定や意見交換を頻繁に行なっている。国内の協力機関のメンバーには、メールや電話等での連絡や学会等での話し合いを通じて意見交換や情報交換を行なっている。なお、本事業のメンバーが他の外部資金等による支援を受けて関連事業を実施する場合には、別の委員会を設けている。

○相手国拠点機関との協力体制（各国の役割分担・ネットワーク構築状況等）

本事業は、拠点大学をもつ6カ国と協力大学のみをもつ1カ国によって実施することから、それぞれにコーディネーターを設け、連絡を密に取りながら、コーディネーター会議を開いて事業全体の効率的な運営を図っている。また、それぞれの拠点大学等を代表するメンバーが加わった組織委員会を設置し、公正な事業運営とセミナー開催支援等を行う。5つの研究課題にそれぞれリーダーとサブリーダー（参加研究者数が少ないところはリーダーのみ、あるいは参加課題のリーダーのみとする）を設け、研究課題を構成する共同研究による小研究課題の実施をサポートする。

各国コーディネーターは、各研究グループから例年12月に研究者交流を含む英文の研究計画書の提出を求め、それに基づいて次年度研究計画書を作成し、関連助成機関に提出する。予算確定後、コーディネーター間で調整して研究者交流等の詳細な計画案を策定している。

○日本側拠点機関の事務支援体制（拠点機関全体としての事務運営・支援体制等）

事務局学術研究部研究推進課が全体的な計画・実施報告等の統括的な事務を行い、農学部総務・予算係及び事務局財務部契約課が連携して経理事務を行うことにより、事務支援体制を整え、円滑な研究活動を支援している。