

研究拠点形成事業
平成26年度 実施報告書
A. 先端拠点形成型

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

(交流分野：応用微生物学)

(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)

(交流分野：Applied Microbiology)

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. 採用期間

平成26年4月1日 ～ 平成31年3月31日

(初年度目)

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）：医学系研究科・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、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, Phramongkutklao 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, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, BIOTEC (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology) Culture Collection, Bio-Economy of Biodiversity-based Economy Development Office (BEDO)

(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、マエファラーン大学、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、ソククラ王子大学、ラジャマンガラ工科大学タウンोक、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、遺伝子工学・バイオテック国立研究所、タイ科学技術研究所、バイオテックカルチャーコレクション、生物多様性経済開発庁

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 GOETS

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・Deputy Director・Dung Thi Phuong NGO

協力機関：(英文) National University of Hanoi, Ho Chi Minh City University of Technology, Tay Do University, Tan Tao University, Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, IMBT

(和文) ハノイ国家大学、ホーチミン市技術大学、タイドー大学、タンタオ大学、熱帯生物研究所、科学技術ベトナムアカデミー、経営や事業技術研究所

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・Lecturer・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)

(和文) 11月10日技術大学、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

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)

協力機関：(英文) なし

(和文)

経費負担区分 (A 型)：パターン 2

5. 研究交流目標

5-1. 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。

5-2. 平成 26 年度研究交流目標

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る。また、それぞれの拠点大学等の代表的な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。

平成 26 年度は本事業の初年度となることから、早い時期にコーディネーター会議を開催し、本年度事業計画だけでなく事業全体の詳細について打ち合わせを行う。また、個々の共同研究グループの共同研究を早く軌道に乗せるために、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月初旬に開催し、5年間の研究の方向性や計画を含めた研究打ち合わせの機会を確保する。同時に、共同研究のカウンターパートが未定の研究者は、コーディネーターの支援を受けながらカウンターパートを探す機会となる。さらに、インドネシアの研究者は先の拠点事業に参加していないことから、インドネシアで第1回サテライトセミナーを開催し、本事業内容の紹介や広報するとともに共同研究者間の交流や研究施設等の視察を行う。加えて、それぞれの研究者間において、メール等により共同研究の打ち合わせや具体的な研究交流について頻繁に連絡を取ることにする。加えて、本事業参加研究者の指導学生が若手研究者セミナー等へ参加することにより、将来にわたる研究協力体制の構築を目指す。平成27年3月頃に、次年度に向けたコーディネーター会議を開催する計画である。

5年間の共同研究計画は、以下の5つの研究課題に分けて実施する。それぞれの課題は後述の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。

課題 1 : Explorational Research of Useful Microbes

(有用微生物の探索研究)

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)

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)

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)

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)

また、全体的交流の場を確保するために、全員が参加するジョイントセミナーをタイおよび日本で隔年開催する。また、インドネシア、ラオス、ドイツ、ベトナムの研究者との共同研究の活性化あるいは本事業の広報のために、サテライトセミナーを毎年開催する。さらに、若手研究者の育成も兼ねて、若手研究者セミナーを毎年開催する。

第1回ジョイントセミナーをNRCTの要請に応じてタイ研究博覧会2014の会場内(バンコク)で実施し、先の拠点事業から継続している共同研究を中心に研究成果発表を行い、事業全体としての情報交換を行う。また、第1回サテライトセミナーをマラン(インドネシア)で開催し、本事業で実施する共同研究に関連する研究成果を発表し、意見交換を行う。合わせて、本事業を広報するとともに共同研究者間の交流や研究施設等の視察を行う。さらに、第1回ワークショップをタイ側が中心となって開催し、本事業関連の技術の紹介等を行う予定である。初年度であることから、課題1~4までは熱帯性環境からの微生物の探索等が主な研究となることから、タイを含むASEAN諸国での活動が中心となる。先の拠点事業から継続するような一部の研究課題については日本の大学で共同研究を実施する。一部の研究者は、未だカウンターパートが確定していないが、カウンターパートが見つかり次第、活動を開始する。課題5については、先の拠点事業で開発された株などを用

いて共同研究を実施する。

各共同研究グループは、英語による年度計画書や年度報告書をコーディネーターに提出する。これによって各研究チーム内の意思疎通を促すとともに、コーディネーターはこれに基づいて、それぞれの国の支援機関に年度計画書及び成果報告書を提出する。

先の拠点事業に引き続いて、第10回及び第11回若手研究者セミナーを山口市及びカセサート大学で開催し、若手研究者育成に貢献する。特に、日本で開催する若手研究者セミナーでは、多くの外国人若手研究者が参加するように計画する。若手研究者セミナーは、大学院学生を中心に企画・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。本活動は若手研究者育成にとどまらず、将来的な研究ネットワーク形成に繋がるものと位置づけている。これまでと同様に、個々の研究者による留学生の受け入れや若手研究者育成も積極的に進める。

これまでの拠点事業によって数多くの耐熱性微生物が分離され、新技術に繋がる有用性が示されてきた。本事業においても無尽蔵な微生物資源の継続的開発をすすめ、新たな有用微生物や技術を開発することによって社会に貢献できると考えている。新規微生物については日本側と相手国側で寄託機関へ登録すると同時に、研究成果は学術論文として報告する。生物多様性条約の枠組みの中、微生物資源の重要性の認識とともに当該国間で微生物資源の共同開発を進めるが、そのために協定締結によって友好的な展開を図る。これまでと同様に、個々の研究者による社会貢献も積極的に行う。

6. 平成26年度研究交流成果

(交流を通じての相手国からの貢献及び相手国への貢献を含めてください。)

6-1 研究協力体制の構築状況

平成26年度実施計画に従って、第1回コーディネーター会議を5月8～9日に山口大学で開催し、本年度事業計画に加えて5年間全体について打ち合わせを行った。また、第1回サテライトセミナーを8月7～8日にインドネシア・スラバヤで開催した。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の計らいでThailand Research EXPO2014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。さらに、日本側コーディネーターが11月21～30日にドイツ・イギリスを訪問し、第3回コーディネーター会議の内容説明や本事業に関する意見交換を行うとともに、共同研究について相談や施設見学を行った。

6-2 学術面の成果

課題1で特筆すべき成果としては、エタノール生産性耐熱性細菌、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、耐熱性マンナナーゼ高生産菌 (*Bacillus* sp.)、タイの水産発酵食品 (プラ・ソム)に含まれる細菌、シヤ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示す細菌などを単離することができた。また、*Thermobifida alba* AHK119由来の組換えカルボキシルエステラーゼ (Ca119)の発現・精製条件の確立、耐熱性マンナナーゼ高生産菌 (*Bacillus* sp.) が生産するマンナナーゼ (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、*Corynebacterium glutamicum*由来のアミロマルターゼの変異酵素の発現、*Bacillus amyloliquifaciens*のレバンスクララーゼ遺伝子の大腸菌での発現、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、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、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に成功した。

課題2では、それぞれの共同研究において進展があった。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あった。一つの側面として、耐熱性微生物 (酵母・バクテリア) のストレス耐性化、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、それぞれ成果が報告された。そのような解析から生まれた「活性酸素除去」が一つ耐熱性付与の方法であることを複数の微生物で証明し、共同で特許出願も行った。もう一つの側面として、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、様々な酵母株を短期間で育種することが可能になる。何より、タイなどの優秀な若手研究者に本プログラムのような手厚い留学期間を与えることができれば、さらに発展できると期待される。また、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バイオマス生産の誘導条件を見いだしたことは大きい。さらに、その時に発現量の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。

課題3の成果としては、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。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。2) 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た。3) 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、その生理活性として癌細胞の浸潤阻害活性、前駆脂肪細胞の分化誘

導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。

課題 4 では、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*)、ベトナム餅麴メンから *Saccharomyces cerevisiae* Y3 酵母、タイ壺酒ウから *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 ϕ T25 など多彩な機能をターゲットにしたスクリーニングから得られた極めて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 に抗酸化活性や 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。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 *Clitopilus* 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ており、次年度以降、これら生理活性化化合物群の単離構造決定が待たれる。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、様々な変異酵素遺伝子を取得した。新規ファージゲノムは次世代シーケンサーによりゲノム構造を解析した。

課題 5 では、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が実施された。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、プロテアーゼ生産菌、リパーゼ生産菌、キシラナーゼ生産菌、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。既に菌株を得ている課題では実験室レベルの基礎的な発酵試験が進んだ。高温発酵系の構築を期待できる耐熱性微生物に関しては基礎的な高温発酵データが得られた。また、実用化に近いパイロットスケールの高温発酵試験も実施され、商用生産に向けて前進した。機能性食品生産に向けた研究においては脂質酸化防止機能を定量化できた。これらに加え種々のバイオマスを利用したバイオ燃料やバイオプラスチック等の発酵生産系の基礎データも得られており、連続運転等への展開が期待できる。つまり植物残渣等、未利用資源を利用した発酵による有用物質生産系の構築が進んでいるといえる。遺伝子工学的な菌株の改良においても副産物の生産経路を欠損させることで生産効率の改善が見られた。

6-3 若手研究者育成

平成 26 年 1 月 16～17 日、第 10 回若手研究者セミナーを山口市で開催した。タイ・ベトナム・インドネシア等の本拠点事業参加研究者の指導する学生を含めた、海外から 6 か国 50 名以上が参加し、日本人学生を含め全体で 100 名を超える若手研究者が参加した。本セミナーは、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、単に若手研究者育成にとどまらず、学会開催のノウハウの取得や将来的な研究ネットワーク形成に繋がるものと期待している。なお、第 11 回若手研究者セミナーをカセサート大学で開催する予定であったが、日本人学生の渡航が同一日程にならなかったこと等から中止となった。そのかわりに、それぞれの受け入れ大学でセミナーを開催し、英語による研究発表を行った。

さらに、本事業参加研究者による留学生の受け入れや研究室の若手研究者育成も、協力大学自身の奨学金や JASSO、タイの RGJ 等、他ファンドを利用して積極的に進めた。その他、カウンターパートの指導する修士や博士課程学生を Co-Advisor として指導し、あるいは論文の審査委員として博士号を授与した日本側研究者も多数報告があった。また、先の拠点大学方式事業によって博士号を日本で取得し、アジア研究教育拠点事業や本事業にも参加している若手研究者が、その業績により准教授へ昇進した。

6-4 その他（社会貢献や独自の目的等）

初年度の社会貢献等を以下に列記する。1)大阪の地元酒造企業との交流を通じてタイの醸造に関する情報を交換することができた。2)山口大学は、タイを重点連携国に指定し、その第 1 回セミナーおよび ALCA ワークショップ「High-Temperature Fermentation Technology with Thermotolerant Microorganisms in Tropical Area」をカセサート大学で開催し、タイの研究者や企業関係者を含む多くの参加に対して、これまでの 20 年以上の耐熱性微生物に関する実績を紹介した。3)耐熱性微生物の構築方法について特許出願を行った。4)分子微生物生態工学について、広島市及び呉市で開催した市民講座で解説した。5)実際の発酵の現場で問題となるファージ汚染の根本的原因を解明し、ファージ耐性菌の作出など実用可能な知見や技術が多数得られることが期待できる。これらを通じアセアン諸国での乳酸発酵産業を育成し、当該国民の需要が高まる発酵乳を国内供給することが可能となる。6)タイ・インドネシア、また日本において食糧生産分野土壌間肥沃度解析ニーズが高まっており、農産物生産性の向上や環境浄化への貢献ができています。7)優秀な外国人留学生を獲得し、英会話や通訳のボランティア活動を通じて社会に貢献できた。8)平成 27 年 3 月の日本農芸化学会大会で『微生物及び植物における「耐熱性」と「耐熱化」』と題してシンポジウムを開催し、一般研究者や企業関係者が多数参加した。9)沖縄県民向けのシンポジウムを 2 回、泡盛業界向けのセミナーを 1 回開催した。

6-5 今後の課題・問題点

課題 1 では、2 つの課題が見いだされた。1 つは、情報共有が一部の小課題研究グループにおいて十分できていないようであった。もう 1 つは、一部の小課題研究において研究遂行のために日本での丁寧な技術指導が必要であることが判った。日本への受け入れを多くすることが望まれる。

課題 2 では、多くの研究チームが「引き続き、当初の計画を進めることで研究成果が得られる」と自己評価した。ただし、昨今のゲノムワイド解析には近代的な解析装置や細密なバイオインフォマティクス解析が必要となり、国際的に評価される論文に仕上げていく

には、日本側の努力が大きなウエイトを占めるのが現状であると考える。

課題3では、一番大きな課題はまだパートナーが見つからない小課題が存在していることである。また、タイとの交流は進んでいるが、他国との交流が遅れていることも今後の課題である。初年度に関わらず多くの成果を得ており、より拡充すべきであると考えられる。CCP以外に何らかの予算措置が欲しいところである。

課題4においては、運用面での課題としては研究者交流の具体的な陣容やスケジュールが年度明けてからでないと決まらないので十分な準備ができないこと、あるいは準備していても反故になることが若干見受けられた。今後、長いスパンでの交流計画を確定して行く必要がある、タイ側のリーダーとの綿密な打ち合わせが必要である。

課題5では、制度に由来する問題点があった。日タイ研究者双方が持つ研究資源を共有するにあたって、知的財産権の問題もあり、困難な部分が生じた。まずは協力できる研究に絞って実施することとしたが、知的財産権の問題を解決することが必要である。あるいは、以前の拠点大学交流事業（1998-2008年）にて共同研究したメンバーと再び共同研究をはじめたものの、相手研究者の環境変化に伴い十分に研究時間を取れない例もある。この例の場合では、博士課程学生やポストクの新規加入を先方に依頼している状況である。

6-6 本研究交流事業により発表された論文

平成26年度論文総数	9本
相手国参加研究者との共著	7本

7. 平成26年度研究交流実績状況

7-1 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
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	(和文) 伊藤真一・山口大学農学部・教授				
	(英文) Shinichi ITO・Yamaguchi University・Professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	(英文) Piamsook PONGSAWASDI・Chulalongkorn University・Professor Peter GOETZ・Beuth University of Applied Sciences・Professor Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Lecturer Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Lecturer Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor				
参加者数	日本側参加者数			34名	
	(タイ)側参加者数			30名	
	(ドイツ)側参加者数			1名	

	(ベトナム) 側参加者数	6名
	(インドネシア) 側参加者数	1名
	(ラオス) 側参加者数	1名
26年度の研究 交流活動	<p>本研究課題では以下の12件の小課題について共同研究を実施した。</p> <p>1. Screening of useful microorganisms (有用微生物の検索)</p> <p>1)耐熱性エタノール生産性細菌の探索とその解析 ASEAN諸国のバイオマスからのバイオ燃料生産や他の有用物質生産を目指して、諸国の優秀なエタノール生産性細菌の取得を目指している。本年度は、研究活動計画に従い、タイ、ベトナム、ラオスでの菌株の分離を試みた。また、関係国の研究者との交流および学生同士の交流を積極的に実施した。</p> <p>2)熱帯地域由来微生物の有用酵素の探索と機能解析 プリンスオブソクラ大学Aran H-Kittikun博士の協力により、タイで伝統的なアルコール飲料製造に用いられているスターターを収集し、培養法とDNA解析法(DGGE法)により微生物叢の解析を行った。23種類のスターターのうち、培養法によりすべてのスターターから微生物を単離し、一部について糖化および発酵能を測定し、菌株の同定を行った。また、一部のスターターについてDNA解析法(DGGE法)により微生物叢の解析を行った。未達成の部分については、平成27年度に行う予定である。タイの微生物及び植物由来の有用酵素の探索：富山県立大学大学院博士前期課程学生をタイのプリンスオブソクラ大学に派遣し、熱帯地域における微生物及び植物の有用酵素の探索を行う予定であったが、タイ南部の政情不安のために派遣を断念した。</p> <p>3)アジア熱帯地域からの薬物探索資源微生物の開拓 カウンターパート候補であるカセサート大学のThamchaipenet准教授が富山県立大学を訪問し、共同研究の進捗状況等について議論した。</p> <p>4)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 Wasana Sukhumsirichart 氏 (Srinakharinwirot 大学) を30日間 (平成27年2月5日～3月6日)、また同大学のドクター生を9ヶ月間、大阪府立大学に受入れた。耐熱性マンナン分解酵素生産菌 (Baacillus sp.) を単離し、本酵素の諸性質を決定した。</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 平成27年3月1日にThida Chaiwangsri 博士が来日し、タイの水産発酵食品 (プラ・ソム) から有用微生物を取得することを試みた。単離された菌株について16S rRNA 遺伝子解析による菌種同定を行った。</p>	

6)熱帯作物の病害防除に利用可能な有用微生物の分離・同定

シヤ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示す細菌を日本の土壌から単離した。

2. Study on isolated microorganisms and their products

(分離微生物及び生産物質の研究)

7) *Thermobifida alba* AHK119由来のクチナーゼ及びカルボキシ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

Thermobifida alba AHK119由来の組換えカルボキシエステラーゼ (Ca119)を発現させ、精製条件を確立した。しかし、Thumarat博士が職場をKing Mongkut Institute of Technology (Bangkok)から現職に移動したこともあり、特性解析には至らなかった。Thumarat博士が平成26年12月～平成27年1月に京都工繊大に滞在した際に発現酵素の凍結乾燥品を作成し今後の解析に役立てるとともに、彼女の研究設備を考慮して実施可能な代替案などのアドバイスをを行った。

8)バチルス属細菌の産生するレバンシュークララーゼとその反応生物の性質の解析、プルラナーゼの遺伝子クローニングと発現およびその性質の解析

伊藤が、バンコクにおける第1回ジョイントセミナー（平成26年8月10日～11日）に出席し、研究発表と打合せを行った。また、Kuakarun Kruson博士が明治大学を訪問し（平成26年12月7日～平成27年1月5日、30日間）、*Corynebacterium glutamicum*のアミロマルターゼ遺伝子とプルラナーゼに関する実験を実施した。さらに、Kamontip Kuttiyawong博士が大阪市立大学を訪問し（平成27年1月7日～2月15日、40日間）、*Bacillus amyloliquifaciens*のレバンスクラーゼ遺伝子と糖転移反応に関する実験を実施した。

9)耐熱性酵母 *Candida easanensis* JK-8株の生産するセルロース分解酵素の精製と特性評価

平成26年11月11日～12月18日まで、Jantaporn Thongekkaew博士が日本側研究室に滞在した。滞在中は、精力的に実験、ディスカッションを行った。タイ国から持参した酵母の培養および酵素の精製を行い、新規なβ-グルコシダーゼを単離した。帰国後、日本側では、精製酵素のN末端配列解析を実施し、その配列を決定した。得られたデータを、インターネットを介し共有し、今後の検討計画を議論した。

10)高付加価値物質を生産する酵母の遺伝子工学的開発

Chulee Yompakdee博士の学生と遺伝子組換えにより有用酵素遺伝子を酵母に導入した。加えて、ヒト遺伝子も酵母に導入することも試みた。

	<p>11)微生物の生産する生理活性物質の探索</p> <p>8月にバンコクで開催された第1回ジョイントセミナー参加後にカウンターパートである Ramida Watanapokasin 博士を訪問し、今後の方針等をディスカッションした。また Ramida Watanapokasin 博士は1ヶ月間（平成26年度2月）当研究室に滞在し、我々が本年度に構築した化合物スクリーニング方法を教えるなど交流した。</p> <p>12)熱帯・亜熱帯地域からの黒麹菌の単離と応用</p> <p>8月の第1回ジョイントセミナーに参加し、Mahasarakham University の Thalisa Yuwa-amornpitak 博士等のカウンターパートとコンタクトを取ることができた。その後 Thalisa Yuwa-amornpitak 博士とタイ国内における <i>Aspergillus</i> を中心とした微生物の研究状況や関連文献に関する情報についてメールで連絡を取り、今後の研究を進める上で有益な情報交換を行うことができた。</p>
<p>26年度の研究交流活動から得られた成果</p>	<p>1. Screening of useful microorganisms (有用微生物の検索)</p> <p>1)耐熱性エタノール生産性細菌の探索とその解析</p> <p>タイの Kannikar Charoensuk 博士 (Rajamangala Univ. of Technology Tawan-ok) は抗生物質等の組み合わせで、エタノール生産性耐熱性細菌の分離に成功した。</p> <p>2)熱帯地域由来微生物の有用酵素の探索と機能解析</p> <p>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、糸状菌を単離し、そのアルコール生産性を明らかにした。富山県立大学大学院学生の修士論文のテーマとして本研究を実施し、得られた成果に関して国際会議におけるポスター発表1件、国内の学会における口頭発表2件及びポスター発表1件の研究発表を経験させることができた。</p> <p>3)アジア熱帯地域からの薬物探索資源微生物の開拓</p> <p>カセサート大学の Thamchaipenet 准教授がタイ土壌から分離した希少放線菌の生産物を精査したところ、二種類の新規ポリケタイド化合物が得られた。それらの構造は質量分析、NMR 解析により、決定することができた。さらに、それら新規化合物の生物活性を評価した結果、グラム陽性菌に対する抗菌作用、血管新生阻害活性、癌細胞の遊走阻害活性など多彩な薬理活性を示すことを明らかにした。</p> <p>4)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</p> <p>320株の耐熱性菌を対象にマンナン分解活性を指標として、耐熱性マンナーゼ高生産菌 (<i>Bacillus</i> sp.) を選抜した。本菌が生産するマンナーゼ (ManS2) を精製し、諸性質を決定した。本酵素の分子量は</p>

38 kDa、反応最適条件はpH 6、60°Cであり、60°Cまで安定であった。基質特異性解析を行った結果、ManS2はグルコマンナンに最大活性を示し、これをエンド型に分解して種々のオリゴ糖を生成した。また、本酵素をコードする遺伝子のクローニングにも成功した。

Srinakharinwirot大学のドクター生を大阪府立大学に受入れ、本研究を遂行した。

5)有用な微生物および酵素のスクリーニングと解析

タイの水産発酵食品 (プラ・ソム)6 種から細菌40株を単離し、16S rRNA遺伝子解析による同定を行った結果、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus sakei*および*Carnobacterium divergens*などの乳酸桿菌、*Weissella cibaria*および*Enterococcus faecalis*などの乳酸球菌が同定された。また、バイオマス分解酵素として有効な、高活性・高耐熱性を有するβグルコシダーゼを得た。

6)熱帯作物の病害防除に利用可能な有用微生物の分離・同定

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示す細菌を分離・同定した。また、抗菌物質は*F. oxysporum*の菌体成分によって誘導されることを明らかにした。

2. Study on isolated microorganisms and their products

(分離微生物及び生産物質の研究)

7)*Thermobifida alba* AHK119由来のクチナーゼ及びカルボキシ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

Thermobifida alba AHK119由来の組換えカルボキシエステラーゼ (Ca119)を発現させ、精製条件を確立した。共同研究者はクチナーゼで学位を得ることができた。

8)バチルス属細菌の産生するレバンスュークラーゼとその反応生物の性質の解析、プルラナーゼの遺伝子クローニングと発現およびその性質の解析

C. glutamicum 由来のアミロマルターゼ遺伝子への変異導入により、様々な変異酵素遺伝子を取得し、変異遺伝子の発現系を構築した。*C. glutamicum* 由来のアミロマルターゼの変異酵素を発現するとともにこれを精製した。プルラナーゼのスクリーニングと同酵素遺伝子のクローニングを得た。*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た。BCGを脱色するオリゴ糖を産生する土壌細菌を分離し、*Bacillus licheniformis* と同定し、重合度20以下のオリゴ糖であることを明らかにした。*B. amyloliquifaciens* のレバンスクラーゼ遺伝子の大腸菌での発現系で、活性を示す組換え酵素を発現できた。組換えレバンスクラーゼが糖転移反応を示す糖鎖受容体濃度条件を明らかにし

	<p>た。組換えレバンスクラゼの糖転移反応における糖受容体特異性を明らかにした。組換えレバンスクラ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を行った。</p> <p>9)耐熱性酵母 <i>Candida easanensis</i> JK-8 株の生産するセルロース分解酵素の精製と特性評価</p> <p>タイで単離された耐熱性酵母 <i>Candida easanensis</i> strain JK-8 の生産する β-グルコシダーゼを単離することに成功した。</p> <p>10) 高付加価値物質を生産する酵母の遺伝子工学的開発</p> <p>遺伝子組換えにより有用酵素遺伝子を酵母に導入した。まず、活性測定の容易なgalactosidaseを融合遺伝子として導入した。発現を確認し、様々な抽出法を試した。しかし、現在までのところ効率よく抽出することはできていない。</p> <p>11)微生物の生産する生理活性物質の探索</p> <p>がんの転移阻害や薬剤耐性克服、またパーキンソン病治療薬シーズの開発を目的とした細胞モデル系を幾つか構築することが出来た。耐熱性微生物を実際に取り扱うことで、それら知見を持った若手研究者の育成が出来た。</p> <p>12)熱帯・亜熱帯地域からの黒麹菌の単離と応用</p> <p>書籍の分担執筆 1 件、学術雑誌への執筆 4 件を行った。学会発表 7 件、招待講演 1 件を通じて若手研究者の育成に努めた。沖縄県民向けのシンポジウムを 2 回、泡盛業界向けのセミナーを 1 度開催した。</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・山口大学農学部・准教授 (英文) Toshiharu YAKUSHI・Yamaguchi University・Associate Professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	(英文) Pornthap THANONKEO・Khon Kaen University・Associate Professor Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Lecturer Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Lecturer Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor				
参加者数	日本側参加者数	14 名			
	(タイ) 側参加者数	17 名			
	(ベトナム) 側参加者数	3 名			
	(インドネシア) 側参加者数	1 名			
	(ラオス) 側参加者数	2 名			

<p>26年度の研究 交流活動</p>	<p>本研究課題では以下の8件の小課題研究を実施したが、その内、7)および8)については、適当なカウンターパートが定まっていない。</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 ジョイントセミナーに参加し、その際、カウンターパートと研究打ち合わせを行った。カウンターパートが日本側研究室に1ヶ月滞在し、研究を行った。別のカウンターパートが日本側研究室を訪問し、研究打ち合わせを行った。本研究に関連して、タイ・ベトナム・インドネシアから、それぞれ2名・1名・1名の大学院生あるいは学生を2~3ヶ月間受け入れた。第10回若手研究者セミナーに、タイ・ベトナム・ラオス・インドネシアから多くの若手研究が参加した。このような機会にもカウンターパートとの研究打ち合わせを重ねた。</p> <p>2) 耐熱性エタノール生産性細菌 <i>Zymomonas</i> 属菌の分布調査と高温適応の分子機構 第1回ジョイントセミナーに参加し、その際、カウンターパートと研究打ち合わせを行った。カウンターパートが1ヶ月研究室に滞在し、研究を行った。別のカウンターパートが研究室を訪問し、研究打ち合わせを行った。本研究に関連して、タイ・インドネシア・ベトナムの学生を教育した。</p> <p>3) 耐熱性酢酸菌による高温酢酸発酵系の開発 第1回ジョイントセミナーに参加し、その際、カウンターパートと研究打ち合わせを行った。カウンターパートが1ヶ月研究室に滞在し、研究を行った。別のカウンターパートが研究室を訪問し、研究打ち合わせを行った。その研究室の院生が3ヶ月研究室に在籍し、本研究を進めた。本研究に関連して、カセサート大の院生の教育を行った。</p> <p>4) 耐熱性コリネ型細菌によるグルタミン酸発酵 ジョイントセミナーに参加し、その際、カウンターパートと研究打ち合わせを行った。カウンターパートが3ヶ月研究室に在籍し、本研究を進めた。本研究に関連して、カセサート大及びスラナリー工科大の院生の教育を行った。</p> <p>5) 耐熱性 <i>Gluconobacter</i> の耐熱性機構の解析とその応用 ジョイントセミナーに参加するなどし、カウンターパートと直接対面して研究打ち合わせを行った。</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 カウンターパートである Kamonchai Cha-aim 博士が27年1月~2月にかけて日本に滞在し、研究を進めた。</p> <p>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 平成26年8月開催の第1回ジョイントセミナーにおいて、日本側</p>
-------------------------	--

	<p>研究者がポスター発表を行うことによって、本事業関係国の研究者に対して研究紹介を行った。</p> <p>8) 耐熱性分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces japonicus</i> の有効利用</p> <p>日本側研究者が、第1回ジョイントセミナーにおいて口頭発表によって研究紹介を行うとともに、本事業研究者と意見交換を行った。</p>
<p>26年度の研究交流活動から得られた成果</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</p> <p>それぞれの国で耐熱性酵母の分離を進め、特に同種の酵母の分離を目指したが、異なる種の酵母は取れているが、同種の酵母の分離数はまだ十分ではない。また、これまで分離した耐熱性酵母についてストレス耐性化を行った。共同研究国の研究者や学生との交流も積極的に行った。また、耐熱性酵母のストレス耐性化を行うと同時に、その中の1つについては変異部位の特定を進めた。耐熱性酵母の完全ゲノム解析およびトランスクリプトーム解析を行い、論文とした。また、「耐熱性」の分子機構について報告した。</p> <p>2) 耐熱性エタノール生産性細菌 <i>Zymomonas</i> 属菌の分布調査と高温適応の分子機構</p> <p>本年度は研究活動計画に従い、耐熱性ザイモモナス菌の耐熱性遺伝子を同定するとともに、耐熱化株を育種により数株取得し、そのゲノム配列解析を行った。また、関係国の共同研究者の招聘を含む交流ならびに学生同士の交流を積極的に行った。<i>Zymomonas mobilis</i> TISTR 548 の耐熱性遺伝子をほぼ特定した。また、<i>Z. mobilis</i> 株より耐熱化株を数株取得し、それらのゲノム配列解析を実施し、耐熱化により変異した遺伝子を推定した。</p> <p>3) 耐熱性酢酸菌による高温酢酸発酵系の開発</p> <p>1) ベトナムで分離された <i>Acetobacter</i> 属菌株の系統解析及び生理学的解析を進めた。2) タイで分離された <i>Gluconacetobacter</i> 属菌株の酢酸発酵特性及び菌膜生成能の解析を行うとともに、それらの株の系統解析を行った。3) <i>A. pasteurianus</i> から得られた耐熱化株 TH-3 の変異遺伝子解析を進め、耐熱化機構解明に向けた研究を進めた。本研究に関連して「耐熱性微生物の作成方法」の特許出願を行った。</p> <p>4) 耐熱性コリネ型細菌によるグルタミン酸発酵</p> <p>1) 新たに分離されたコリネ型細菌 PP25, PP80, CS176 と以前分離されていた I2L 及び N24 株との系統解析を行い、N24 株以外の4株は全て <i>C. glutamicum</i> KY9002 株に近縁であったが、N24 株は系統的に少し離れた株であることがわかった。また、それらの新株の生育温度は、N24 (40°C) より低く、KY (37°C) に近い生育温度を示したが、そのグルタミン酸生産能は著しく高いことが示された。2) 加えて、KY 株での SOD 破壊及び高発現株を構築し、その高温生育への効果を明らかにし</p>

	<p>た。また、カウンターパートと共同で「耐熱性微生物の構築方法」の特許出願を行った。</p> <p>5) 耐熱性 <i>Gluconobacter</i> の耐熱性機構の解析とその応用</p> <p>耐熱性 <i>Gluconobacter</i> 属酢酸菌の耐熱性機構について、分子生物学的手法を用いて解析した。また、酒石酸の生成に寄与することが示されている酢酸菌トランスケトラーゼについて、耐熱性 <i>Gluconobacter frateurii</i> CHM43 の組換え酵素を利用した機能解析を行った。</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</p> <p>酵母の発酵をテストするとともに、酵母の遺伝子操作を行った。遺伝子操作においては、遺伝子変異を導入する新しい方法を開発し、ゲノム上の遺伝子に点変異を入れることができた。これにより、今後、新しい株を取得することが期待できる。</p> <p>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</p> <p>極限環境下における光合成を基盤としたバイオマス生産の仕組みと効率化を目指した。極限環境藻類に関して、窒素欠乏に依らないバイオマス生産の誘導条件を見いだした。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、重要遺伝子の候補を複数選抜した。</p> <p>8) 耐熱性分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces japonicus</i> の有効利用</p> <p>耐熱性を示す分裂酵母の <i>S. japonicus</i> の高温下でのエタノール生産能やユビキノンの合成欠損と増殖能を解析した。特に、各種温度下でのエタノール生成能を比べた解析では、高温（42 度）までエタノール生産が可能であることなど、学術的に興味深い発見があった。</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
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	(和文) 前田 健・山口大学共同獣医学部・教授 (英文) Ken MAEDA・Joint Faculty of Veterinary Medicine・Professor				
相手国側代表者 氏名・所属・職	(英文) Sunee NITISINPRASERT・Kasetsart University・Associate Professor Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Lecturer Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・Associate Professor				
参加者数	日本側参加者数	24 名			
	(タイ) 側参加者数	14 名			
	(ベトナム) 側参加者数	1 名			
	(ラオス) 側参加者数	1 名			

<p>26年度の研究 交流活動</p>	<p>本研究課題では以下の10件の小課題研究を実施した。その内、5)については、適当なカウンターパートが定まっていない。</p> <p>1) アジアにおける感染症の疫学的解析 カセサート大学のWorawut先生がタイのイヌとネコから血清を回収し、日本に運んで、各種ウイルス疾患の感染状況の調査を実施した。</p> <p>2) 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 ガンマポリグルタミン酸PGAあるいは納豆菌(PGA生産菌)によるカドミウム(Cd)障害イネの生育回復実験を圃場のグリーンハウスで行なった。一方では、Cdで汚染された下記の水田土壌から、PGA生産菌、PGA分解酵素生産菌を分離し、これらの分離菌を用いてPGAによるCd障害イネの生育回復のメカニズム、PGA生産菌とイネとの相互作用におけるPGAの役割の解明を試みた。</p> <p>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-植物相互作用に関与する微生物機構の研究 平成26年8月10～11日にバンコク・セントラルワールドで開催された第1回ジョイントセミナーに参加し口頭発表(Alisa Vangnai博士)及びポスター発表(加藤)で当研究グループの研究成果発表を行った。8月12～13日にはチュラロンコン大学理学部Alisa Vangnai研究室を訪問し、Alisa Vangnai博士と研究討論を行うとともに、6名の学生の研究指導を行った。</p> <p>4) 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 タイにおいては抗菌活性細菌の分離と予備的な性状調査、日本国においては軟腐病菌の収集を行い、その成果についてメールを通じて情報を交換した。</p> <p>5) 植物共生細菌の多様性解析とその応用 日本側研究者が、第1回ジョイントセミナーにおいて本研究内容について本事業関係国の研究者と意見交換を行った。</p> <p>6) 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 タイ北部の現地から取得した土壌サンプル中の微生物相の分析を行った。それらの中から、次年度以降に日本側で分子レベルでの同定をしていくための種の選抜を進めた。</p> <p>7) 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 第1回ジョイントセミナーには、タイ側研究者のみ参加し、その他にも実質的な交流の機会は無かったが、互いの研究計画、これまでの</p>
-------------------------	---

	<p>研究に関する情報交換と論文作成および今後の研究の進め方について必要に応じてE-mailによるディスカッションを行った。</p> <p>8) 植物-微生物間相互作用に関与する新規二次代謝産物</p> <p>平成26年8月の第1回CCPジョイントセミナーにて松井とSaisamorn Lumyong教授が研究打ち合わせを行い、その結果を受けて、10月6日～12月14日までチェンマイ大学の予算からSuwannarach博士が、SS-SVの予算で博士課程学生2名が山口大学に滞在し、共同研究を進めた。その間、Lumyong教授が山口大学を訪問され、学生指導と研究打ち合わせを実施した。</p> <p>9) 耐熱性緑藻による機能性脂質生産</p> <p>平成26年8月の第1回CCPジョイントセミナーにてDuenrut Chonudomkulカセサート大学理学部微生物学科講師と知り合い、お互いの研究内容に共通する藻類による有用脂質生産の研究テーマについて親交を深めた。同年10月に加藤が自費にてカセサート大学理学部微生物学科に出向き、上記2件の研究テーマについてChonudomkul講師と今後の共同研究開始に向けた打ち合わせを行い、正式に次年度より研究交流活動を開始することを決定した。</p> <p>10) 熱帯性植物と内生菌との化学的相互作用の解明</p> <p>タイ北部野生シナモンから単離した内生菌 <i>Muscodor albus</i> CZ-620 と MFC2 の菌糸培養時の揮発性化合物の GC-MS 分析を進め、3-methylbutan-1-ol や 2-methylpropanoic acid などを大量に生成することを見いだした。対峙培養で内生菌が病原菌の生育を阻害することが確認されたためこれら揮発性化合物が抗菌活性を有しているものと考えられた。そこで収穫後のみかんに果実腐敗病菌を感染させ、内生菌由来揮発成分を曝露すると病原菌被害を顕著に抑制することを見いだした。</p>
<p>26年度の研究交流活動から得られた成果</p>	<p>1) アジアにおける感染症の疫学的解析</p> <p>タイのバンコク周辺の動物病院で回収されたイヌとネコの血清を国内に輸入して、各種感染症に関して疫学調査を実施した。その結果、興味深い点としてE型肝炎ウイルスに多くの犬が感染していることが判明した。人獣共通感染症として興味深い知見である。</p> <p>2) 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</p> <p>(1)PGAによるカドミウム(Cd)障害イネの生育回復効果：本年度の前半は、ロ紙に培地を浸漬させた水耕栽培法で、イネを発芽、生育させ、(1) Cd 障害、(2) PGA による Cd 障害の修復を細かく調べた。その結果、PGA による Cd 障害イネの修復は、PGA はイネの毛根細胞内には取り込</p>

まれず、毛根細胞の外側でPGA-Cd 複合体が形成されることによると推定された。年度の後半は、上記で述べたスズ鉱山からの Cd 汚染水田の土壌を採取した。土壌の Cd 汚染は採取場所によってかなりばらつきがあったが、もっとも Cd 汚染の高い地域の Cd 含有量は 182mg/Kg であった。

(2)PGA による花卉植物の生育促進効果：本年度後半、寒天培地を用いた組織培養の実験系で、花卉植物の生育を観察した。その結果、供試したある種の植物が、無添加のものに比べて、著しく速く成長した。

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-植物相互作用に關与する微生物機構の研究

タイの根圏土壌から分離された *Pseudomonas* 属細菌がクロロアニリン類に走化性応答を示すことを見出した。クロロアニリン走化性の分子機構解明のため、*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 をモデルとして解析を進め、すでにリン酸走化性センサーとして特性化されている CtpL がクロロアニリンのセンサーであることを見出した。さらにペリプラズムリン酸結合蛋白質 PstS は CtpL を介したリン酸走化性には必須であるが、クロロアニリン走化性には必須でないことを見出した。

4) 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

タイ側では拮抗微生物資材の候補細菌を得て、その抗菌メカニズムを解析する基礎研究を開始している。日本側でも軟腐病菌の収集は順次行うことができた。

5) 植物共生細菌の多様性解析とその応用

カウンターパートがいれば具体的に進める予定であったが、見つからないため予備的な試験だけを行っている。まず植物葉面から頻繁に分離される細菌について、通常の寒天培地を用いた微生物間の拮抗作用だけでなく、細胞同士を密着させた状態で起こる殺菌作用が起こるかどうかを調べるために、薬剤耐性株の誘導を行った。

6) 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

タイ北部の現地から取得した土壌サンプル中の微生物相の分析を行った。それらの中から、次年度以降に日本側で分子レベルでの同定をしていく種の選抜を進めた。

7) 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

これまでに植物葉圏から取得した微生物の系統解析を進め、タイのオリーブ葉から分離した1株の新種提唱論文を投稿した。また、各種メタノール資化性細菌による植物生長促進効果を、イネやウキクサを対象として評価し、顕著な生育促進効果を示す菌株を複数取得した。さ

	<p>らに、メタノール資化性酵母のメタノール誘導性遺伝子発現制御に関わる転写因子複合体の機能解析を行うとともに、本酵母の植物表層での窒素源利用に関する解析を行った。</p> <p>8) 植物-微生物間相互作用に関与する新規二次代謝産物</p> <p>チェンマイ大学の予算、並びにSS-SVでの予算で来日した博士研究員、博士課程学生との実質的な共同研究で、植物内生菌の生産する新規二次代謝産物の精製と構造決定を進めた。そのひとつは新規化合物で分子内エンドペルオキシド構造を有する極めてユニークな代謝産物である事が明らかとなった。</p> <p>9) 耐熱性緑藻による機能性脂質生産</p> <p>正式な研究交流活動は次年度からとなるため、本年度は共同研究立ち上げ自体が成果である。</p> <p>10) 熱帯性植物と内生菌との化学的相互作用の解明</p> <p>今回単離した内生菌が生産する揮発性化合物を同定し、本菌を用いたバイオフミゲーションによりミカン果実で果実腐敗病を抑制する効果を見いだした。</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・山口大学医学系研究科・教授</p> <p>(英文) Kenji MATSUI・Yamaguchi University・Professor</p>				
相手国側代表者 氏名・所属・職	<p>(英文) Kosum CHANSIRI・Srinakharinwirot University・Associate Professor</p> <p>Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Lecturer</p> <p>Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Lecturer</p>				
参加者数	日本側参加者数	29名			
	(タイ)側参加者数	29名			
	(ベトナム)側参加者数	7名			
	(インドネシア)側参加者数	6名			
26年度の研究 交流活動	<p>本研究課題では以下の19件の小課題について共同研究を実施した。</p> <p>1) 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</p> <p>中山は8月6日から11日までバンコクを訪問し、カウンターパートであるカセサート大学 Sune Nitinprasert 博士の博士学生の審査、次いで講演会、そしてCCP 第一回ジョイントセミナーに参加し発表を行い、本課題についての進捗状況と今後の課題について情報交換した。</p> <p>Nitinprasert 博士は2月から1ヶ月間九州大学に滞在し、本研究課題の</p>				

進展に必要な次世代シーケンサーを用いたフローラ解析について技術習得した。

2) 熱帯微生物を活用した有益なバイオフィルムおよびバイオサーファクタントの開発

本年度は、タイ王国との交流を重点的に進めた。電話および電子メールを使った事前連絡打ち合わせの後、現地を訪問して新規バイオサーファクタント生産菌からの産物調製法および活性測定法などについて指導を行った。

3) タンパク質分解酵素および抗ビブリオ活性化合物を生産する紅色非硫黄細菌の選抜

平成26年5月8日～11日に仁戸田と神崎がPSUを訪問(費用はPSU負担) Duangporn 博士と共同研究を実施した結果として Tomorn Nunkaew 氏が博士号を取得したが、その最終審査(ディフェンス)に訪問した。その際に、本テーマについてのタイ側での研究進捗状況をディスカッションした。さらに平成27年度に本研究をタイで実施している博士課程学生を半年間岡山で受け入れることとなり、その実験内容の具体的なディスカッションを実施した。

4) 天然有機化合物の生物変換

神崎の研究費で Duangporn 博士が12月4日から24日まで岡山大学を訪問し、上記研究のうち、化合物の単離精製を行い3種の化合物を新たに単離した。さらに滞在中に富山で開催された国際会議 Active Enzyme Molecule 2015 でタイ側研究者が口頭発表を行ない、成果について公表するとともに、関連研究者と情報交換をおこなった。

5) 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

Onanong 博士はタイ国の発酵乳から耐熱性乳酸菌である *Lactobacillus paracasei* を単離・同定し、本株に感染するファージ ϕ T25 を分離した。平成27年3月1日～30日の間に、九州大学大学院農学研究院附属遺伝子資源開発研究センターにおいて、土居と共同でファージの表現型解析及びゲノム構造解析について研究した。具体的には電子顕微鏡によるファージの形態観察、宿主域の決定、一段増殖曲線解析、耐熱性、pH安定性、耐塩性などを検討した。また、次世代シーケンサー-Miseqを用いて、 ϕ T25ゲノムの塩基配列を決定した。

6) 耐熱性ラン藻由来の熱安定性物質の応用

日常的な研究交流活動としては、電子メールを用いた討論を進行させた。一方で、直接の交流としては、CHAYAKORN PUMAS氏が平成27年3月1日～31日までの一か月間東京大学に滞在し、温泉ラン藻から16S rDNAの同定ならびにフィコエリスリン等有用物質生産の可能性について研究を行った。

7) 新奇バクテリオシン生産乳酸菌の探索とその利用

タイの発酵食品や動物の腸管などから、多数の乳酸菌様分離株を得た。種々の解析により、分離株の多くが乳酸菌に分類されることが明らかとなった。また、数株の分離株がバクテリオシン様の抗菌物質を生産することを見出し、さらに詳細な特性を解析中である。特に、タイの研究者を受け入れ、研究を進展させた。ベトナムの研究者とも関連研究について情報交換を行い、次年度以降の研究の進展に向けて準備を行った。

8) 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

平成 26 年 8 月 10 日～11 日に開かれた第 1 回ジョイントセミナーに参加し、研究発表を行った。ポスターセッションにも参加し、参加者と情報交換を行った。

9) 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

平成 26 年 8 月にバンコクで開催された第 1 回ジョイントセミナーにおいて、ベトナム側カウンターパート (Dung 博士) と研究内容、研究計画等をディスカッションした。その前後の期間は、メールで研究内容、研究計画等をディスカッションした。すなわち、使用する *Saccharomyces cerevisiae* Y3 の特性について、さらにアルコール飲料試醸に使用する黒米や白米などの原料について、また、アルコール飲料試醸後の分析項目についてメールでやり取りをした。菌の分離はベトナムで過去に行ったが、研究は、それぞれの大学で進めた。

10) 多機能性微生物を用いたバイオマス生産および有機廃棄物循環の高次システム構築

マンチェスター大学およびボイト大学を訪問し、今後の若手研究者育成の方策について議論した。(平成 26 年 11 月 29 日～12 月 6 日)
自己資金を用いてコンケン大学の博士課程学生 2 名を指導教員 (Saowanit 講師) とともに九州大学に招へいし、合同セミナーを開催した。また、研究の方向性と論文作成に関わるディスカッションを行った。(平成 27 年 3 月 9 日～3 月 12 日)

11) 海洋細菌によるアミド・ニトリル化合物の生分解

平成 26 年度は日本側教員の研究所建て替え等の問題のため、第 1 回ジョイントセミナーでの交流を除いて、直接的な交流はほとんどできなかった。タイ側の研究について、メール等による進捗状況の報告を受けた。

12) PLA 分解微生物の応用

① 徳山が学生 2 名を同行 (別経費) し、平成 26 年 6 月 30 日～7 月 5 日

の日程で、カセサート大学理学部およびスリナカリンウィロット大学理学部を訪問し、合同セミナーを実施した。7月4日～5日の日程で、カセサート大学のチームとサカエラット環境研究センターを訪問し、周辺で試料採取を共同で行った。

② 徳山が、8月12日～15日の日程で、カセサート大学理学部およびスリナカリンウィロット大学理学部を訪問し、共同研究の打ち合わせおよび共同で試料採取を行った。

③ Sukhumaporn 博士（スリナカリンウィロット大学）が、平成27年3月1日～31日の日程で、静大・徳山研究室において共同研究を実施した。

13) 植物内生放線菌の農業への応用

1 徳山が平成26年11月19日～20日の日程で、チェンマイ大学理学部を訪問（別経費）し、Wasu博士と共同研究の打合せを行った。

2 徳山が平成27年1月30日～31日の日程で、チェンマイ大学理学部を訪問（別経費）し、Wasu博士及び学生と共同研究および学生交流について打合せを行った。

3 Wasu博士（チェンマイ大学理学部）が、平成27年3月1日～31日の日程で、静大・徳山研究室において共同研究を実施した。

14) *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

本小研究課題では、ほぼ独立した2つのサブ課題に取り組んだ。メールによる交流を経て、Aの方は概ね研究交流活動による目標達成ができたと考えている。酵素に関する取り組みを中心に行い、遺伝子側からのアプローチも試みた。一方、もう一つのサブ課題のBでは、お互いにほとんど取り組めていないのが現状であり、次年度への課題である。

15) 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) インドネシアでの研究交流活動

平成26年8月、インドネシアで開催された第1回サテライトセミナーにて、Ir. Sukoso 教授、Andi Kurniawan 講師と研究打ち合わせを実施した。

(2) タイでの研究交流活動

平成26年8月、タイで開催された第1回ジョイントセミナーにて Wasu Pathom-aree 講師及び Sirilak Sanpa 講師と、研究打ち合わせと進捗状況の報告会を実施した。

(3) インドネシアでの研究交流活動

平成26年10月にインドネシア・ブラビジャヤ大学を訪問（別経費）し、今後の具体的な交流および研究計画の打ち合わせを実施した（久

	<p>保および若山)。</p> <p>(4) 日本での研究交流</p> <p>平成 27 年 3 月、立命館大学に Andi Kurniawan 講師が来日 (別経費) され、研究サンプルの受け渡しと次年度へ向けた研究打ち合わせを実施した。</p> <p>16) 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</p> <p>平成 26 年度は第 1 回ジョイントセミナー後に、カウンターパートの研究室において活動状況について相互報告を行い、サジェスションを行った。また、新たに同国の生物資源を利用し、沖縄の伝統発酵食品製造に用いられる麹菌による新規機能性物質 (生理活性物質) の発酵生産に関するテーマをスタートさせた。</p> <p>17) 熱帯性植物からの内生菌の単離とその応用</p> <p>第 1 回ジョイントセミナー開催時にバンコク市内で Kakumyan 博士と松井が打ち合わせ会議を行った。さらに、11 月 19 日～29 日まで Mae Fah Luang 大学の招聘を受けて松井が Mae Fah Luang 大学に滞在し、若手研究者の指導を行うとともに Kakumyan 博士と植物内生菌スクリーニングの共同研究を実施した。</p> <p>18) ベニコウジカビ(<i>Monascus spp.</i>)の藻類起源バイオリソースからのバイオエタノール生産系への応用可能性の検討</p> <p>Boonprab 博士が、本事業経費により平成 26 年 10 月 10 日～11 月 8 日の 30 日間山口大学農学部滞在中、タイ国内で単離した <i>Monascus</i> 属菌の生育条件の最適化、およびエタノール生産能に対する培地グルコース濃度の影響について検討した。</p> <p>19) 塩性環境からのポリヒドロキシアルカノエート(PHA)生産菌の単離と PHA 生産経路の解明</p> <p>平成 27 年 2 月 11 日～3 月 12 日までの 29 日間、Yasawong 博士が山口大学農学部滞在中、Yasawong 博士がタイ国内のマングローブ林内から単離した超高塩耐性微生物の種同定を実施した。</p>
<p>26 年度の研究交流活動から得られた成果</p>	<p>平成 26 年度は以下の成果が得られた。</p> <p>1) 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</p> <p>(ア) 平成26年度は、課題である「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」を目指して研究を開始した。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した。その結果、インドネシアとタイの人の多くが日</p>

	<p>本人にはあまり見られないプレボテラ属細菌が豊富に存在するなど、異なるフローラを有することが明らかになった。</p> <p>(イ) カウンターパートであるカセサート大学Sunee Nitisinprasert 博士の研究室のSupatjaree Ruengsomwong氏の博士論文 (Microbiota of Thai vegetarian and non-vegetarian as an Indicator for Health) について審査委員として審査を行い、博士を授与した。</p> <p>2) 熱帯微生物を活用した有益なバイオフィルムおよびバイオサーファクタントの開発</p> <p>(ア) タイ王国の環境試料をスクリーニングした結果、新たなバイオサーファクタント高生産菌の取得に成功し、その微生物学的諸特性を解析した。その結果、<i>Aureobasidium</i>属酵母であることが判明した。さらに、いくつかの培地を検討し、活性成分の高効率生産条件を策定した。</p> <p>(イ) 8月初旬に開催された第1回ジョイントセミナーの際に、先方の研究室を訪問し、バイオサーファクタントの精製法や活性測定法について学生を直接指導した。その後、指導教授を通じた電子メールのやりとりで研究の進捗をフォローした。</p> <p>3) タンパク質分解酵素および抗ビブリオ活性化合物を生産する紅色非硫黄細菌の選抜</p> <p>(ア) タイ側で単離した菌株がエビ養殖現場で問題となっているビブリオ菌の生育抑制に有効であることが判明し、その活性成分の同定が必要となった。</p> <p>(イ) 博士課程学生が本プロジェクトに関与しており、平成27年度に岡山大学で当該学生が共同研究を実施することが決定した。その学生は有機化学の素養とそれに関する技術を身につけ、その技術を身につけた若手研究者となることにより活躍が期待できる。</p> <p>(ウ) 上述の通り、本研究で得られる抗ビブリオ活性を有する微生物は、エビ養殖現場での利用への展開が大いに期待される。</p> <p>4) 天然有機化合物の生物変換</p> <p>(ア) 新たな化合物の単離に成功しており、それらの構造解析や整理活性測定が行なわれることで、構造活性壮観研究、代謝研究が一段と加速すると期待される。</p> <p>(イ) タイ側の講師として活躍している研究者の業績が積み重ねられ、准教授への昇進が期待される。</p> <p>(ウ) 生理活性を有する化合物が新たに見いだされる可能性があり、それをシーズとする医薬品や食品素材の開発が期待できる。</p> <p>5) 発酵乳中からの乳酸菌および乳酸菌フェージの単離と特性解析</p> <p>(ア) タイ国の発酵乳から耐熱性乳酸菌<i>Lactobacillus paracasei</i>および本</p>
--	--

菌株を宿主とする耐熱性バクテリオファージφT25を単離した。本ファージは、形態からShiphovirusに分類され、*L. paracasei*以外の試験した20種以上の乳酸菌には感染性を示さず宿主域が狭いことが分かった。また、増殖性、耐熱性、pH安定性、耐塩性などの性質を明らかにできた。さらに、本ファージゲノムを抽出し、次世代シーケンサーによりゲノム構造を解析した。現在、得られた塩基配列情報を基に、遺伝子を検索している。また、マイトマイシンCにより、*L. paracasei*からファージの誘導に成功し、本株中にはファージが溶原化していることも分かった。

(イ) 本研究成果を参加研究者Onanong Pringsulaka氏および同氏が指導している大学院博士課程学生と共に論文投稿を行っており、27年度中旬には投稿を完了する予定である。このように、当該国の若手研究者の論文作成技術を向上させることができている。また、Onanong氏に当研究室に在籍しているベトナム人研究者、ルワンダ人研究者、インドネシア人大学院学生、韓国人大学院学生に対して研究指導やディスカッションを行わせることで、国際的視点を持たせるとともに、指導力を涵養させた。

(ウ) 本研究では、タイ国の乳酸発酵の現場から乳酸菌株およびファージを単離して、性状を解析した。このため、実際の発酵の現場で問題となるファージ汚染の根本的原因を解明し、ファージ耐性菌の作出など、実用可能な知見や技術が多数得られることが期待できる。これらを通じ、タイ国をはじめとする東南アジア諸国での乳酸発酵産業を育成し、当該国民の需要が高まる発酵乳を供給することができる。

6) 耐熱性ラン藻由来の熱安定性物質の応用

(ア) ラン藻の培地と培養条件の至適化には目途がつき、大量培養が可能な状況となってきた。一方では、フィコエリスリンの大腸菌における発現は、未だ成功していない。

(イ) タイ側の若手研究者とメールにより情報交流を行っているため、直接の指導に比べると効果は落ちてはしまうものの、きちんと育成も進められていると判断している。

7) 新奇バクテリオシン生産乳酸菌の探索とその利用

(ア) タイで発酵食品や動物の腸管から分離された乳酸菌様細菌の同定、およびそれらが生産する抗菌物質の解析を行った。分離株の大半は乳酸菌の一種と同定され、抗菌スペクトルや構造の解析結果から、数株の分離株が生産する抗菌物質が新奇バクテリオシンの可能性が高いと考えられた。

(イ) タイよりPairat Sornplang博士を迎え、実験手法を供与するとともに

に、研究成果を得ることができた。また、タイの研究者と、当研究室の大学院生等の若手研究者との交流を図ることができた。さらに、本研究課題に関連して、タイの学生の学位取得に貢献することができた。

(ウ) タイおよびベトナムの研究者と交流を図ることができ、当研究室のメンバーをはじめとする若手研究者とも交流の機会を設けることができた。

8) 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

私たちの現在の研究テーマでは交流テーマを見つけることが難しく、ジョイントセミナーのポスターセッションではカウンターパートを見つけるに至らなかった。さらに研究交流を続けることで、お互いの持ち味を生かせるテーマを模索したい。

9) 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

ベトナムの餅麴メンから分離した*Saccharomyces cerevisiae* Y3酵母、タイ国ナコーンパノムの壺酒ウから分離した*S. cerevisiae* NP01、日本醸造協会の*S. cerevisiae* K7をもちいて、国産の精白米を原料に、常法の蒸煮アルコール発酵と省エネルギー的な無蒸煮発酵法でアルコール飲料を試醸した。糖化剤には、*Rhizopus* 属起源のグルコアミラーゼ製剤スミチームをもちいた。蒸煮法および無蒸煮法でアルコール飲料をつくることができた。DPPHラジカル消去能は、それぞれのアルコール飲料で550~650 μ Mトロロックス当量であったが、Y3酵母でつくったアルコール飲料が高い値を示した。脂質過酸化阻止能はそれぞれのアルコール飲料で2300~2700 μ M BHT当量であったが、Y3とNP01酵母をもちいたものがK7酵母より高い値を示した。蒸煮発酵法と無蒸煮発酵法でつくったアルコール飲料のあいだで抗酸化能に大差はなかった。*Oryza sativa*に属する、精白米、黒米、赤米、緑米と*Zizania aquatica*に属するワイルドライスを原料にK7酵母とスミチームをもちいてアルコール飲料を試醸した。DPPHラジカル消去能は、精白米を除く有色米とワイルドライスをもちいたアルコール飲料が高かったが、脂質過酸化阻止能はワイルドライスを原料にしたものが高かった。今後、Y3酵母とNP01酵母をもちいて有色米とワイルドライスを原料にアルコール飲料をつくり、その特性を比較検討して行く。今後、学会発表や論文発表を行う。

10) 多機能性微生物を用いたバイオマス生産および有機廃棄物循環の高次システム構築

(ア) 無蒸煮デンプンからの直接乳酸発酵を行う微生物を同定し、省エ

	<p>ネ化に繋がるこれまでに報告のない生デンブunからの直接L-乳酸発酵の最適条件を決定した。</p> <p>(イ) マンチェスター大学およびボイト大学を訪問し、今後の若手研究者育成の方策について議論した。(平成26年11月29日～12月6日)</p> <p>(ウ) 自己資金を用いてコンケン大学の博士課程学生2名を指導教員(Saowanit講師)とともに九州大学に招へいし、合同セミナーを開催した。また、研究の方向性と論文作成に関わるディスカッションを行った。(平成27年3月9日～12日) 上記合同セミナーは公開で行い、研究交流の成果を広く社会・学内に周知した。</p> <p>11) 海洋細菌によるアミド・ニトリル化合物の生分解</p> <p>(ア) アミド・ニトリル化合物の分解菌を複数分離し、同定した結果、<i>Bacillus</i>属細菌、<i>Staphylococcus</i>属細菌が得られている。現在分解経路の推定中である。</p> <p>(イ) 平成26年度は日本側教員の研究所建て替えのため引っ越し等があり、実質的な人材交流は行わず、各自で進めることにしたため若手研究者育成に関しては日本側から報告する内容はない。タイ側では本テーマで2人の修士学生が取り組んでおり、Chiang Mai University Journal of Natural Sciencesへ1報の論文と1件の国際学会発表がある。研究成果については幅広く情報発信して実際の現場での汚染物質分解につなげたいと考えている。</p> <p>12) PLA 分解微生物の応用</p> <p>(ア) ポリ乳酸製品を屋外で分解し、増殖可能な微生物の探索を目指して、酸性(pH 5.0)でPLA分解可能な微生物を分離したが、乳酸の資化性は認められなかった。</p> <p>(イ) Sukhumaporn博士(スリナカリンウィロット大学理学部、講師)が静岡大学農学研究科に平成27年3月1日～31日の日程で滞在し、ジャーファーマンター(5L, 10L)を用いて、PLA分解酵素の培養条件を検討した。</p> <p>13) 植物内生放線菌の農業への応用</p> <p>(ア) 国内の有機栽培野菜から、内生および根圏放線菌を190株分離した。</p> <p>(イ) イチゴ内生菌の植物成長促進効果について検討したが、促進効果を示す放線菌は、IAA生産、リン酸可溶化及びシデロフォアの生産に関していずれも、顕著な特徴を示さなかった。放線菌の植物成長は、これら以外の要因により促進されていると考えられた。</p> <p>(ウ) Wasu博士(チェンマイ大学理学部講師)が静岡大学農学研究科に3/1-31の間滞在し、人工気象器を用いてバイオコントロールのポット試験法などについて実習した。</p>
--	--

14) *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

今年度は、本課題の中でも分子レベルの部分に焦点を絞った。酵素活性の検出は難しかったが、弱い活性を検出できた。遺伝子の解析に着手したが、具体的な成果を得るには至らなかった。大学院生などの学生、若手の職員が積極的に研究を引っ張っている。独自に設定した目標は達成したと考えている。

15) 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

(ア) インドネシア、タイ、並びに日本の環境状況と土壌環境さらには農業スタイルに関する情報を獲得し共有することができた。また、微生物の観点からは、新規に活性を有している微生物の取得の可能性が明らかとなった。

(イ) 日本で学位を取得した若手研究者がタイおよびインドネシアで独立し、また本プロジェクトを通じ研究アクティビティーが確実に向上している。日本に在住の若手研究者も同様に、共同研究による研究成果を上げている。

(ウ) タイ、インドネシア、また日本において食料生産分野で土壌間肥沃度解析ニーズが顕著に高まっており、農産物生産性の向上や環境浄化への貢献が出来ていると考えている。

16) 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

(ア) 今年度、我々は沖縄県の伝統発酵食品“とうふよう”製造工程で用いられる漬け汁から消化酵素耐性の抗酸化物質を単離精製し、構造解析まで行った。本抗酸化物質は必須アミノ酸のひとつであり、生体内において様々な生理活性物質の前駆物質としても働くことから、抗酸化活性以外の生理機能も期待できる機能性物質であることが示唆された（現在、執筆中）。一方、タイ側では、タイの伝統発酵食品である Kapi Ta Dam に抗酸化活性や ACE 阻害活性を見出している。当初の目的どおり、伝統発酵食品の生理活性が明らかにされつつある。

(イ) タイ側若手研究者との SNS やメールを介した交流ができるようになった。これにより、双方向型のディスカッションやサジェスションが可能になった。

(ウ) 我々の研究について学会などで成果を発表しており、発酵食品の機能性や可能性について提起できていると思われる。

17) 熱帯性植物からの内生菌の単離とその応用

(ア) 今年度は本プロジェクトに基づく人的交流がなかったが、松井が Mae Fuh Luang 大学からの招聘を受け、3週間滞在し、研究交流を実

	<p>施した。その中で、Pattana博士が単離したタイ自生キノコ菌糸が高い抗菌活性を有することを発見した。今後、原因化合物の単離、構造決定へと繋げることが可能である。</p> <p>(イ) 松井の滞在中に数名のLecturerクラスの若手研究者と研究交流を行い、ダイズイソフラボン定量に関する情報交換と27年度の研究交流計画を策定することができた。</p> <p>18) ベニコウジカビ(<i>Monascus spp.</i>)の藻類起源バイオリソースからのバイオエタノール生産系への応用可能性の検討</p> <p>(ア) タイで単離されたベニコウジカビ(<i>Monascus sp.</i>)の生育に伴うエタノール生産について検討し、培地グルコース濃度が20%まではグルコース濃度に相関したエタノール生産が認められたが、40%以上では極めて低下した。また、ベニコウジカビはエタノール以外に、イソブタノール、イソペンタノール、フェニルエチルアルコール等を生産することを見いだした。</p> <p>(イ) 拠点大学方式事業（山口大学）で学位を取得したKangsadan博士は既に中堅の研究者であり、今後彼女のラボの若手研究者を山口大学へ招聘し、育成に努めたい。</p> <p>19) 塩性環境からのポリヒドロキシアルカノエート(PHA)生産菌の単離とPHA生産経路の解明</p> <p>(ア) バンコク湾沿岸部マングローブ、および塩田跡土壌サンプルより5 M NaCl存在下で生育できる菌株を単離した。本菌株についてrDNA介在配列から種の同定を進め、またPHA生合成関連遺伝子の単離を行った。</p> <p>(イ) Montri博士は山口大学滞在中にGC-MSを用いた機器分析についても分析技術を習得した。</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
研究課題名	<p>(和文) 新規産業のための次世代発酵技術の構築</p> <p>(英文) Development of Next-generation Fermentation Technology for New Wave Industry</p>				
日本側代表者 氏名・所属・職	<p>(和文) 星田尚司・山口大学医学系研究科・准教授</p> <p>(英文) Hisashi HOSHIDA・Yamaguchi University・Associate Professor</p>				
相手国側代表者 氏名・所属・職	<p>(英文) Savitree LIMTONG・Kasetsart University・Professor</p> <p>Peter GOETZ・Beuth University of Applied Sciences・Professor</p> <p>Dung NGO Thi Phuong・Can Tho University・Lecturer</p> <p>Anton MUHIBUDDIN・University of Brawijaya・Lecturer</p> <p>Somchanh BOUNPHANMY・National University of Laos・</p>				

	Associate Professor	
参加者数	日本側参加者数	16名
	(タイ)側参加者数	24名
	(ドイツ)側参加者数	1名
	(ベトナム)側参加者数	2名
	(インドネシア)側参加者数	1名
	(ラオス)側参加者数	1名
26年度の研究 交流活動	<p>本研究課題では以下の14件の小課題研究を計画し、13件を実施した。実施できなかった12)の小課題については、日本側研究者の体調不良のため中止することとなった。なお、14)については、ベトナムのカウンターパートが急遽ドイツに派遣されたことにより、28年度から共同研究を開始することとなった。</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</p> <p>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している。本年度は研究活動計画に従い、これまでの拠点事業を通じて開発した耐熱性に優れるエタノール生産性ザイモモナス菌株を用いて、ラボスケール(5L)でのグルコースを基質にしたエタノール生産試験を行った。また、関係国の共同研究者との交流ならびに本共同研究に携わる学生同士の交流を積極的に行った。</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</p> <p>研究課題の設定および役割分担を行うことを目標とし、香川大学の奨学金を活用して平成26年9月に、交流相手先のチェンマイ大学に大学院生2名を派遣(別経費)し研究発表と交流を実施した。また、JASSOの短期留学生受け入れ制度の奨学金を活用して平成27年3月から6か月間の予定で、交流相手先のチェンマイ大学から大学院生1名を受け入れ(別経費)、共同研究を実施している。</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>本共同研究では、耐熱性酵母を用いて次世代型の省エネ高温エタノール発酵系の構築を目的としている。課題1や課題2の小課題と連携しながら、優れた耐熱性株をそれぞれ関係国から分離し、それらを高温エタノール発酵に使用する。本年度は、研究活動計画に従って、これまでの拠点事業で既に分離された優れた株の1つを用いて、高温発酵試験を実施した。また、関係国の研究者との交流や学生同士の交流も積極的に行った。</p>	

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

平成 26 年 8 月にバンコクで開催されたセミナー時に研究内容についてタイ研究者とディスカッションした。その前後の期間は、メールで研究内容、研究計画等をディスカッションし、使用する *Amylomyces rouxii* YTH3 の特性について、さらにアルコール飲料試醸に使用する黒米や白米などの原料について、また、アルコール飲料試醸後の分析項目についてメールでやり取りをした。平成 27 年 3 月 1 日～30 日まで、崇城大学に Thalisa 氏を招聘した。その間、実験と討論を行った。

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

平成 26 年 8 月 9 日～11 日(第 1 回ジョイントセミナー期間中)にて、耐熱性微生物またはその酵素を新たに検索することを協議し、「タイ国産発酵食品を分離源とすること」および「互いの研究室保有株(耐熱性菌)」を基に研究を進めることにした。また、カウンターパート(チェンマイ大・Thanongsak Chaiyaso 博士)滞在中は、チェンマイ大研究室保有株(耐熱性菌)由来加水分解酵素の精製と特性解析を行うことにした。同パートナーが帰国後は、サンプル分析や酵素遺伝子のクローニングのための準備を神戸大で進めることにした。

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

Poonsuk 教授を平成 27 年 3 月に招聘(山口大学経費)し、研究打合せを実施した。オイルパーム(パーム椰子)の樹木部分の木質、残渣の加水分解、それに続く糖化に関する条件の最適化に関する研究を実施した。

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

Hunsa 准教授(山口大学経費)、Serhanat 講師(チュラロンコン大学経費)、博士課程学生(Wichanee Bankeeree さん:チュラロンコン大学経費)を招聘し、研究打合せを行った。*Aureobasidium pullulans* や *Phanerochaete sordida* を用いてバイオポリマーの生産に関する条件設定並びにこれまでの研究で継続的に行ってきたセルラーゼの固定化・その産業利用に関する研究を実施した。

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の開発

コンケン大学の博士課程学生 Chatchawin Nualsri さん(SSSV プログラム)を招聘し、ネピアグラスサイレージを原料とした場合のバイオ水素生産に影響を及ぼす環境因子の最適化に関する研究を実施した。

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

	<p>水分解物からのハイタン(水素+メタン)生産</p> <p>Prapaipid 准教授を招聘し、アルギン酸を用いたセルラーゼの固定化、それに引き続き固定化した高温菌によるリグノセルロースからの水素発酵に関する研究を実施した。</p> <p>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</p> <p>タクシン大学の博士後期課程学生 (Chonticha Mamimin さん)を招聘(山口大学経費)し、残渣を含んだパームオイル実廃水からのバイオハイタン生産プロセスの改良(バイオ水素の生産効率改善+バイオ水素廃水を基質としたバイオメタン生産効率改善)に関する研究を実施した。</p> <p>11) 再生可能資源を原料とした有用化成品の発酵生産</p> <p>我々のグループでは、人工的に代謝経路を合成し、産業微生物に付与することでグルコースから合成ゴム原料等の用途を持つ 1,3-ブタンジオールを生産することに成功しており、副産物生合成に関与する遺伝子の欠損による生産の効率化を検討した。1,3-ブタンジオール生産に関して各副産物の生合成に関与する遺伝子の欠損を試みたが、ポジティブな結果は得られなかった。しかし、同時並行して行った 1,3-ブタンジオールの生合成経路を拡張することによる 1-ブタノール合成代謝経路の構築には、成功することが出来た。</p> <p>12) デザインドバイオマスを用いた発酵工学の構築に関する研究 - 非食料バイオマスからのポストバイオエタノールとしてのバイオブタノールやバイオマテリアルとしての光学活性乳酸の生産</p> <p>研究者の健康上の問題から、この小課題は中止することとなった。</p> <p>13) 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</p> <p>平成 26 年 4 月にタイにキャッサバパルプを原料とした高温エタノール発酵パイロットプラントが完成し、10,000 L スケールの高温での発酵試験が実施できる環境が整った。日本企業、現地企業、ウボンラチャタニ大学と協力しながら、このプラントでの発酵試験を複数回にわたって実施した。ウボンラチャタニ大学とは、パイロットプラントで使用する耐熱性酵母の品質管理について検討を行った。これに合わせて、パイロットプラントおよびウボンラチャタニ大学へ渡航し議論しながら進めた。</p> <p>14) ベトナムでスクリーニングした高温水素発酵菌による熱帯性バイオマスからのバイオ水素生産プロセスの構築</p> <p>日本側研究者は、第1回ジョイントセミナーに参加し、本研究について本事業関係者と情報交換を行った。</p>
--	---

<p>26年度の研究 交流活動から得 られた成果</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</p> <p>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しており、開発したザイモモナス菌株によるラボスケール（5L）でのグルコースを基質にした培養検討を行った。異なる濃度（5%および10%）のグルコースによる40℃での発酵試験と繰り返し培養を実施し、これらの条件でのエタノールの発酵生産が可能であることを示すことができた。</p> <p>また、2名の若手研究者Kannikar haroensuk博士（ラジャマンガラ大学）および Kaewta Sootsuwan博士（ラジャマンガラ大学）に国際共同研究の機会を与えている。</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</p> <p>タイ側研究者の持つ微生物ライブラリーを活用して日本側研究者とともに、有用微生物とその酵素のスクリーニングを行い、複数の新規微生物を分離し、オリゴ糖生産への基盤が得られた。</p> <p>本事業の共同研究をきっかけとして日タイ双方の若手研究者に教育研究の機会を提供できた。また、優秀な外国人留学生を獲得できたことで、英会話や通訳のボランティア活動を通じて社会に貢献できた。</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>本共同研究では耐熱性酵母を用いて、高温エタノール発酵系の構築を目的としている。高温発酵は冷却エネルギー削減や中温菌の混入抑制等のメリットに加えて、高い生産性が期待される先端技術として期待される。本年度は <i>K. marxianus</i> DMKU 3-1042 を用いて、4種類の非食用米の酵素による加水分解物を原材料として高温発酵を行い、品種によるエタノール生産性などを検討した。耐熱性酵母を用いた高温発酵試験について論文報告を行った。</p> <p>この間、日本学生支援機構のSSSV事業で、タイ、ベトナム、インドネシアからそれぞれ2名、1名、1名の大学院生あるいは学生を山口大学に2~3ヶ月間受け入れた。また、タイ、ベトナム、インドネシアの大学へ山口大学の大学院生あるいは学生3名、1名、2名が1ヶ月間訪問した。第10回若手研究者セミナーに、タイ、ベトナム、ラオス、インドネシアから多くの若手研究が参加した。平成27年3月29日に日本農芸化学会大会で「微生物および植物における「耐熱性」と「耐熱化」と題してシンポジウムを開催した。耐熱性微生物の耐熱性の分子機構や更なる耐熱化に関する研究発表、植物における耐熱性や耐熱化、<i>in vitro</i>での高温適応進化等について発表および討論を行った。一般研究者や企業関係者が多数参加した。</p> <p>4) 餅麴ルパン(<i>Amylomyces rouxii</i> 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</p>
--------------------------------------	--

タイ国の餅麴ルパンより分離した糸状菌 *Amylomyces rouxii* YTH3 を精白米蒸米に接種してバラ麴を作成した。精白米 30 g でつくった麴をもちいた全麴法でアルコール飲料を試醸した。一方、精白米 15 g でつくった麴に、15 g の生の精白米または 15 g の国産黒米「紫雲」を加え、無蒸煮発酵法でアルコール飲料を試醸した。*A. rouxii* YTH3 麴は、全麴法では、糖化剤・原料として有用であったが、無蒸煮発酵法の糖化剤としては、糖化力をあげるために製麴法の改良が必要である。DPPH ラジカル消去能は、①黒米と *A. rouxii* YTH3 麴でつくったアルコール飲料がもっとも高く、次いで②白米と *A. rouxii* YTH3 麴でつくったもの、③全麴法でつくったものの順であった。一方、脂質過酸化阻止能は、いずれも 1,800~2,000 μM BHT 当量であったが、強さは、上記アルコール飲料②、③、①の順であった。タイ国産の黒米 Rice berry、国産黒米「紫雲」、国産精白米を原料に、糖化剤にグルコアミラーゼ製剤スミチームをもちい、醸造用酵母 K7 で無蒸煮アルコール発酵を行なった。DPPH ラジカル消去能、脂質過酸化阻止能ともに「紫雲」をもちいたものももっとも高かった。今後、これらの成果について学会発表や論文発表を行う予定である。

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

タイ国より持ち帰った「タイ国産発酵食品」から耐熱性・耐塩性微生物を単離し、耐塩性プロテアーゼ生産菌 *Bacillus* sp. No. 16 を得ることができた。Chaiyaso 博士の滞在期間中(平成 26 年 11 月~12 月、31 日間)に保有株 *Streptomyces* 属放線菌よりリパーゼおよびキシラナーゼを精製し、リパーゼが「糖由来水酸基を位置選択的にエステル化すること」、キシラナーゼが「キシランからオリゴ糖を生成すること」を確認できた。平成 27 年 1 月以降、両酵素のアミノ酸配列を解析し、計画通り遺伝子クローニングの準備を進めている。

Chaiyaso 博士の滞在期間中、ゼミ(研究進捗状況報告会)にて氏を交えて研究手法や結果報告を行い、参加学生(共同研究に関わる修士学生 2 名)について英語でのプレゼンテーションの機会を作った。また、Chaiyaso 博士が母国で指導している博士課程学生の Co-advisor を担当することになり、キシラナーゼの特性解析や効率的な生産法についてディスカッションや助言を行うことになった。

また、第 1 回ジョイントセミナーにてディスカッションした耐塩性酵素について共著論文を執筆することになり、*Journal of Basic Microbiology* 誌に発表した。

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

オイルパーム (パーム椰子) の樹木部分の木質、残渣の加水分解、

それに続く糖化に関する条件の最適化を行った。これにより、次年度以降に予定している連続運転のための基礎データが得られた。

山口大学中高温微生物研究センター経費でタクシン大学の博士後期課程学生（Chonticha Mamimin さん）を招聘し研究の一部を実施した。

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

Aureobasidium pullulans や *Phanerochaete sordida* を用いてバイオポリマーの生産に関する条件設定を行った。また、これまでの研究で継続的に行ってきたセルラーゼの固定化・その産業利用についても引き続き実施した。

チュラロンコン大学の支援を受けて同大学の Sehanat Prasongsuk 講師と博士課程学生（Wichanee Bankeeree さん）を招聘し研究を実施した。

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の開発

ネピアグラスサイレージを原料とした場合のバイオ水素生産に影響を及ぼす環境因子の最適化を行った。これにより、次年度以降に予定しているネピアグラス及びネピアグラスサイレージの自己消化による連続運転のための基礎データが得られた。

Kanthima Phummala さん（コンケン大学 Alissara 准教授の元学生）が研究の一部を実施し平成27年3月に山口大学から博士の学位を取得した。合わせて共著の論文が国際ジャーナルに掲載された（別紙_論文リストに記述）。また、SSSV プログラムのサポートで、コンケン大学の博士課程学生 Chatchawin Nualsri さんを招聘し、研究を実施した。さらに、SSSV プログラムのサポートで、今井研究室の修士1年池田恭子さんがコンケン大学の Alissara 准教授の研究室に派遣され、共同研究の一部を実施した。

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

アルギン酸を用いたセルラーゼの固定化を行い、続いて固定化した高温菌によるリグノセルロースからの水素発酵を半バッチ条件下で行った。この結果を基に次年度は連続運転に移行する予定である。

本事業のサポートにより、カセサート大学の Prapaipid Chairattananokorn 准教授を招聘し、研究を実施した。また、SSSV プログラムのサポートで、今井研究室の研究室の修士1年高田舜也さんがカセサート大学の Prapaipid 准教授の研究室に派遣し、共同研究の一部を実施した。

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

残渣を含んだパームオイル実廃水からのバイオハイタン生産プロセスの改良、すなわちバイオ水素の生産効率改善+バイオ水素廃水を基質としたバイオメタン生産効率改善を行った。これに引き続き、温泉から単離した微生物から高温耐性のアミラーゼやセルラーゼを単離・同定し、パームオイル廃水中の残渣の可溶化の加速につなげていく予定である。

山口大学中高温微生物研究センター経費でタクシン大学の博士後期課程学生（Chonticha Mamimin さん）を招聘し、研究の一部を実施し、共著の論文が国際ジャーナルに掲載可となった。

11) 再生可能資源を原料とした有用化成品の発酵生産

好気条件での合成代謝経路構築による 1,3-ブタンジオール生産は、副産物であるエタノールおよび乳酸生合成経路の欠損で、若干であるが効率化が観察されたが、酢酸生合成経路の欠損で有意に生産が低下した。

若手研究者（片岡）が直接推進している課題であり、国際連携およびその連携課での共同研究に関しての将来に役に立つ経験を積みながら進めている。

12) デザインドバイオマスを用いた発酵工学の構築に関する研究 - 非食料バイオマスからのポストバイオエタノールとしてのバイオブタノールやバイオマテリアルとしての光学活性乳酸の生産

研究者の健康上の問題から、この小課題は中止することとなった。

13) 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

高温エタノール発酵は、まだ商業生産例のない新しい発酵方法である。この高温エタノール発酵の省エネルギー効果を示すためのパイロットプラントが稼働できたことで、省エネ効果はもちろんであるが、商業生産に向けた課題を明らかにすることができている。

また、JASSO 奨学金で学部学生をウボンラチャタニ大学へ派遣（別経費）し、耐熱性酵母の品質管理についての研究を共同で実施した。実証プラントはウボンラチャタニ大学卒業生の雇用先ともなっている。

14) ベトナムでスクリーニングした高温水素発酵菌による熱帯性バイオマスからのバイオ水素生産プロセスの構築

日本側研究者は、第1回ジョイントセミナーに参加し、本研究について本事業関係者と情報交換を行った。なお、ベトナム側研究者 Huyen Thi Thu NGUYEN 博士が急遽ドイツに派遣となり、本格的な共同研究は平成 28 年度から実施することになった。

7-2 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」第1回ジョイントセミナー (英文) The 1 st Joint Seminar of JSPS Core-to-Core Program “Establishment of an international research core for newbio-research fields with microbes from tropical areas“
開催期間	平成26年8月10日 ~ 平成26年8月11日 (2日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) タイ、バンコク、バンコクコンベンションセンター (英文) Thailand, Bangkok, Bangkok Convention Centre
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 山田 守・山口大学農学部・教授 (英文) Mamoru YAMADA・Yamaguchi University・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外での開催の場合)	(英文) Gunjana THEERAGOOL, Kasetsart University Associate Professor

参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 (タイ)	
	A.	B.
日本 〈人/人日〉	A.	46/ 184
	B.	5
タイ 〈人/人日〉	A.	60/ 100
	B.	50
ドイツ 〈人/人日〉	A.	2/ 8
	B.	0
ベトナム 〈人/人日〉	A.	2/ 8
	B.	0
インドネシア 〈人/人日〉	A.	2/ 8
	B.	3
ラオス 〈人/人日〉	A.	1/ 4
	B.	4
イギリス (日本側研究者) 〈人/人日〉	A.	1/ 4
	B.	0
合計 〈人/人日〉	A.	114/ 316/
	B.	62

- 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）

※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、備考欄を設け、注意書きを付してください。

セミナー開催の目的	本事業の全体会議として第1回ジョイントセミナーを開催し、これまでの継続的な研究成果発表および討議を行うと同時に、本事業における共通認識形成を目的とした。同時に、個々の小課題研究グループの構成員間での意見交換の場や共同研究者（カウンターパート）が決まっていない参加研究者にとって共同研究者を探す機会を提供することを目的とした。		
セミナーの成果	<p>Keynote 講演、招聘講演、研究成果発表等によって先端研究や研究成果の共有ができるとともに新たな情報や技術に付いて知見を広げることができた。また、個々の小課題研究グループの構成員間での意見交換によって、共同研究の今後の方針等を決定した。また、共同研究者（カウンターパート）が決まっていない参加研究者にとって共同研究者を探す機会となった。また、ジョイントセミナーであることから、異なる国や異分野の本事業参加研究者と広く交流ができ、新たなネットワーク構築にも貢献できたと考えている。</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して開催した。		
開催経費 分担内容 と概算額	日本側	内容	金額
		国内旅費	344,000 円
		外国旅費	5,143,000 円
		その他の経費	352,000 円
		外国旅費に係る消費税	411,000 円
	(タイ) 側	内容	国内旅費 会議費
(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」第1回サテライトセミナー (英文) The 1 st Satellite Seminar of JSPS Core-to-Core Program “Establishment of an international research core for newbio-research fields with microbes from tropical areas“
開催期間	平成26年8月7日 ~ 平成26年8月8日 (2日間)
開催地(国名、都市名、会場名)	(和文) インドネシア、マラン、東ジャワ地域開発銀行本店会議室 (英文) Indonesia, Malan, Bank Jatim Building
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 山田 守・山口大学農学部・教授 (英文) Mamoru YAMADA・Yamaguchi University・Professor
相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外での開催の場合)	(英文) Anton MUHIBUDDIN・Brawijaya University・Lecturer

参加者数

派遣先 派遣		セミナー開催国 (インドネシア)
日本 〈人／人日〉	A.	10/ 40
	B.	0
タイ 〈人／人日〉	A.	4/ 16
	B.	0
インドネシア 〈人／人日〉	A.	16/ 32
	B.	30
合計 〈人／人日〉	A.	30/ 88
	B.	30

- 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)

※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、備考欄を設け、注意書きを付してください。

セミナー開催の目的	第1回サテライトセミナーを開催し、ジョイントセミナーを開催しないインドネシアにおいて本事業内容を紹介するとともに現地の共同研究環境等を把握することを目的とした。特に、本事業の5つの研究課題の紹介、研究課題の中の小研究課題の発表、インドネシアの大学あるいは企業の研究者からの研究紹介や施設見学などを目的とした。		
セミナーの成果	インドネシアの本事業参加研究者に対して、本事業の紹介や一部の研究紹介を行うと同時に、インドネシアの大学や研究者に対して、本事業の広報をすることができた。特に、本事業の5つの研究課題をインドネシアでどのように実施するか、具体的な意見交換を行うとともに、インドネシアの研究環境などを見学し、理解する機会となった。		
セミナーの運営組織	本事業の組織委員会を運営組織として開催した。		
開催経費 分担内容 と概算額	日本側	内容	国内旅費 金額 46,000円 外国旅費 903,000円 その他の経費 100,000円 外国旅費に係る消費税 72,000円
	(タイ)側	内容	外国旅費
	(インドネシア)側	内容	国内旅費 会議費

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」第10回若手研究者セミナー (英文) The 10 th Young Scientist Seminar of JSPS Core-to-Core Program “Establishment of an international research core for newbio-research fields with microbes from tropical areas“
開催期間	平成26年11月16日～平成26年11月17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 City, Yamaguchi-Ken Seminarpark
日本側開催責任者 氏名・所属・職	(和文) 山田 守・山口大学農学部・教授 (英文) Mamoru YAMADA・Yamaguchi University・Professor

相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外での開催の場合)	(英文)
--	------

参加者数

派遣先 派遣元	セミナー開催国 (日本)	
日本 〈人/人日〉	A.	9/ 18
	B.	54
タイ 〈人/人日〉	A.	2/ 4
	B.	24
ベトナム 〈人/人日〉	A.	4/ 8
	B.	6
インドネシア 〈人/人日〉	A.	1/ 4
	B.	16
ラオス 〈人/人日〉	A.	1/ 4
	B.	0
バングラディシュ (第三国) 〈人/人日〉	A.	0/ 0
	B.	3
中国 (第三国) 〈人/人日〉	A.	0/ 0
	B.	2
合計 〈人/人日〉	A.	17/ 38
	B.	105

- 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）

※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、備考欄を設け、注意書きを付してください。

セミナー開催の目的	有用微生物を含めた生物学研究に携わる若手研究者の育成やネットワーク形成を目的として、第10回若手研究者セミナーを開催した。なお、本セミナーは前拠点事業から継続している。特に、日本人大学院生や外国人大学院生に対して、セミナー企画・運営の経験や参加者全員に英語による研究成果発表の機会を提供することを目的とした。
-----------	--

セミナーの成果		<p>1) セミナー企画・運営の経験を積ませることができた。</p> <p>2) 英語による研究成果発表や討議の機会となった。</p> <p>3) それぞれの研究発表に対して、質問や意見が出され、対応能力が試された。</p> <p>4) 一般的な微生物研究を深く知る機会となった。</p> <p>5) 他国の若手研究者との交流ができ、異文化を知る機会となり、また、将来に亘るネットワーク形成に繋がったと思われる。</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して開催した。	
開催経費 分担内容 と概算額	日本側	内容 国内旅費	金額 0円
		消耗品費	0円
		その他経費	0円
		※ 日本側代表機関（山口大学）の自己資金で実施	
	(タイ)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		

7-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

所属・職名 派遣者名	派遣・受入先 (国・都市・機関)	派遣期間	用務・目的等
カセサート大学・准教授 Gunjana Theeragool	日本・山口市・ 山口大学	H26. 5. 8 ～ H26. 5. 10	第1回コーディネーター会議
カントー大学・准教授 Dung Ngo Thi Phuong	日本・山口市・ 山口大学	H26. 5. 8 ～ H26. 5. 11	第1回コーディネーター会議
ベルリンボイト工科大学・教授 Peter Goetz	日本・山口市・ 山口大学	H26. 5. 7 ～ H26. 5. 11	第1回コーディネーター会議
ブラビジャヤ大学・講師 Anton Muhibuddin	日本・山口市・ 山口大学	H26. 5. 7 ～ H26. 5. 10	第1回コーディネーター会議
山口大学・教授 山田守	インドネシア・ マラン・ブラビ ジャヤ大学	H26. 9. 18 ～ H26. 9. 23	CCP 事業打ち合わせ
九州大学・教授 酒井謙二	イギリス・マン チェスター・マ ンチェスター大 学	H26. 11. 22 ～ H26. 11. 27	研究者派遣
九州大学・教授 酒井謙二	ドイツ・ベルリ ンボイト工科大 学	H26. 11. 28 ～ H26. 12. 1	研究者派遣
山口大学・教授 山田 守	タイ・バンコ ク・カセサート 大学	H27. 2. 11 ～ H27. 2. 14	CCP 次年度計画打ち合わせ

8. 平成26年度研究交流実績総人数・人日数

8-1 相手国との交流実績

派遣先 派遣元	国名	日本	タイ	ドイツ	ベトナム	ラオス	イギリス (日本側研究 者)	合計
日本	1		0/0 (5/11)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (5/11)
	2		44/195 (5/43)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	56/235 (5/43)
	3		0/0 (5/28)	2/8 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	4/20 (5/28)
	4		1/5 (3/22)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	1/5 (3/22)
	計		45/200 (18/104)	2/8 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	81/260 (18/104)
タイ	1	1/3 (1/60)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	1/3 (1/60)
	2	0/0 (0/75)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/75)
	3	7/222 (12/588)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	7/222 (12/588)
	4	15/464 (15/209)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (2/4)	15/464 (17/273)
	計	23/689 (28/104)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	23/689 (34/104)
ドイツ	1	1/5 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	1/5 (0/0)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (2/8)		0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (2/8)
	3	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	4	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	計	1/5 (0/0)	0/0 (2/8)		0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	1/5 (2/8)
ベトナム	1	1/4 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)			0/0 (0/0)	1/4 (0/0)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (2/8)	0/0 (0/0)			0/0 (0/0)	0/0 (2/8)
	3	2/58 (4/186)	0/0 (3/28)	0/0 (0/0)			0/0 (0/0)	2/58 (5/214)
	4	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)			0/0 (0/0)	0/0 (0/0)
	計	3/62 (4/186)	0/0 (3/36)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	3/62 (7/222)
ラオス	1	0/0 (0/0)	0/0 (4/12)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (4/12)
	2	0/0 (0/0)	0/0 (1/4)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	0/0 (1/4)
	3	1/33 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)		0/0 (0/0)	1/33 (0/0)
	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)
	計	1/33 (0/0)	0/0 (5/16)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	1/33 (5/16)
合計	1	4/16 (1/60)	0/0 (9/23)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	4/16 (10/83)
	2	0/0 (0/75)	44/195 (12/71)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	56/235 (16/162)
	3	11/317 (18/124)	0/0 (6/56)	2/8 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	15/337 (24/130)
	4	15/464 (15/202)	1/5 (3/22)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	16/469 (21/328)
	計	30/797 (35/104)	45/200 (30/172)	2/8 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (2/4)	81/1057 (71/1008)

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流した人数・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。

8-2 国内での交流実績

1	2	3	4	合計
0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (0/0)	0/0 (10/30)	0/0 (10/30)

9. 平成26年度経費使用総額

(単位 円)

	経費内訳	金額	備考
研究交流経費	国内旅費	7,546,996	
	外国旅費	7,083,318	
	謝金	0	
	備品・消耗品 購入費	66,056	
	その他の経費	761,867	
	外国旅費・謝 金等に係る消 費税	541,763	
	計	16,000,000	
業務委託手数料		1,600,000	
合 計		17,600,000	

10. 平成26年度相手国マッチングファンド使用額

相手国名	平成26年度使用額	
	現地通貨額[現地通貨単位]	日本円換算額
タイ	2,000,000[BAHT]	6,244,400 円相当
ベトナム	100,000[US\$]	10,285,000 円相当
ラオス	500,000[円]	500,000 円
ドイツ	7,000[EUR]	980,000 円相当
インドネシア	3,000,000[円]	3,000,000 円

※交流実施期間中に、相手国が本事業のために使用したマッチングファンドの金額について、現地通貨での金額、及び日本円換算額を記入してください。