

微生物の保存とカルチャーコレクションの役割

フィールド科学系部門 生物科学班
川北 龍司

1. はじめに

広島大学大学院先端物質科学研究科の分子生命機能学専攻では、微生物の保存と分譲を通じた研究支援を目的として、微生物遺伝資源保存室 (HUT カルチャーコレクション, 以下 HUT) を設置している。

本稿は筆者が寮務を担当している HUT の活動とその意義について紹介するものである。

2. HUT の業務

HUT は国内の微生物保存機関のネットワークである日本微生物資源学会の機関会員として参加するだけでなく、国際的な微生物保存機関のネットワークにも参加している、公的に認められた機関として以下の業務を行なっている。

(1) 微生物の保存

微生物の保存が必要な理由は後述するとして、HUT では有用な微生物を保存している。保存している微生物は糸状菌、酵母、放線菌、細菌であり、平成 22 年度末の時点でそれぞれ 707 株、438 株、319 株、30 株を保有している。

(2) 微生物の分譲

現在は分譲手数料の徴収について調整中であるため、積極的な分譲は行なってはいないが、学内および学外の教育機関へは分譲を行なっており、年間十数株程度の分譲を行なっている。

(3) 微生物の寄託

HUT は国際的に認められた微生物保存機関であるため、新種登録のための寄託が可能である。また、その他の有用微生物の受け入れも行なっている。

(4) その他

その他には学内の支援として、特許寄託株を特許寄託機関へ送付する際に必要となるアンプルの作成支援も行なっている。また、ホームページ上で菌株カ

タログの公開や、データベースの web 検索サービスも行なっている。

3. 微生物の保存法

微生物の保存法には様々な方法があるが、本稿では主に HUT で採用している方法について紹介する。

(1) L-乾燥法

試料を真空状態のガラスアンプル管に乾燥状態で封入する方法である。菌種に適合する保護培地に懸濁後、ガラス管に分注し、綿栓を所定の位置まで押し込んだのちに真空乾燥を行い、真空を保ったまま封入する方法である。従来の凍結乾燥法のように凍結する必要が無いため、凍結による細胞のダメージがなく保存性が非常に良い方法である。欠点としては開封するとなくなってしまうことや、作成に手間と熟練が要求されることが挙げられる。

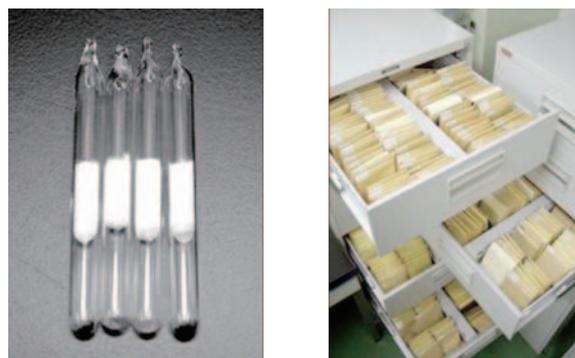


図 1. L-乾燥アンプルとアンプル保管庫

(2) 凍結保存

-80°C の超低温フリーザーで微生物を凍らせて保存する方法である。作成が容易で一部だけ取り出せるなど、簡便でコストが安いのが特徴である。欠点としては、フリーザーの故障や停電によって温度が上昇すると、保存している菌株にダメージが発生するため、

管理に注意が必要な点である。これを回避するために HUT では複数のフリーザーを使用している。しかし、先端物質科学研究科の建物自体に停電に対する備えが無く、バックアップ電源の配線はあるものの、本配線とは別になっており、災害時の停電に対しては全くの無防備である。そのため、L-乾燥が可能な株はアンプル作成を順次行い、バックアップ体制を整えているところである。



図 2. 糸状菌の凍結保存標品

4. 微生物保存の意義とカルチャーコレクション

HUT で行なっている微生物の保存が必要な理由はいくつかあるが、まず微生物は命名基準に標本を利用できないことがあげられる。つまり、ある微生物をいったん命名したら、その微生物を生きのまま永久的に保存しなければならない。同時に、微生物は世代サイクルが短期間であるために性質が変わりやすく、元の性質を維持する必要がある、生きのまま活動を停止させて保存する必要がある。

そして最も重要なことは、有用な微生物が一旦失われてしまえば、その再取得は非常に困難であることである。なぜなら自然界には多種多様な微生物が無数に存在しているため、その中からたった一つの有用微生物をピンポイントに拾いあげるのは不可能に近い。現存する有用微生物は全てたまたま運が良かったから発見できたのであって、そのような偶然を再現させるのは非常に困難であろう。それよりも失われないように保存する方がはるかに簡単である。そのため、有用微生物は番号をつけて生きのまま保存し、

分譲されなければならない。

これまでに微生物は研究や産業において無数に利用されてきたが、それらのほとんどは失われ、現在は入手できない。それは菌株を適切に保存し分譲できる機関(カルチャーコレクション)がなかったためである。効果的な研究には適切に保存された微生物株の供給源が必要であるだけでなく、バイオテクノロジー分野で重要な微生物は貴重な遺伝子資源でもあるため、微生物株は人類共通の文化財なのである。それゆえ、これらは正常な状態で次世代に受け継がなくてはならない。

このように、微生物の保存は現代社会においてなくてはならない事業であるが、このような業務を行う機関はカルチャーコレクションと呼ばれ、国内外に多数設置されており、HUT もその一員として活動しているのである。

5. 国内の微生物保存機関の歴史

前述のとおり、微生物の保存はなくてはならない事業であるが、このような事業が国内で開始されたのは世界的に見ても古く、最も古いものは 1904 年の国税局醸造試験所(RIB)に遡る。

HUT は満州鉄道株式会社中央研究所(CLMR)に保存されていた CLMR コレクションを基礎としているが、CLMR は日本最古の保存株カタログである「Catalogue of Cultures of Fungi」を 1927 年に出版した、当時は最先端の保存機関であった。そのカタログを出版したのが CLMR 所長の斎藤賢道先生であり、1933 年に大阪帝国大学(OUT)へ赴任され、1940 年に退官後、長尾研究所(NI)の設立に参加されている。長尾研究所は、当時は精力的に活動していたカルチャーコレクションであったが、惜しくも 1970 年代にその活動を終えており、現在その菌株は主に理化学研究所(JCM)が保有している。

HUT を設立したのは、CLMR において斎藤賢道先生のもとで微生物保存事業を担当された長西広輔先生である。長西広輔先生が広島高等工業学校へ赴任された際に CLMR コレクションを譲り受けて 1930 年に設立したのが HUT である。それらの菌株

はその後の戦災をもくぐり抜け、現在まで受け継がれている。

また、発酵研究所(IFO)も我が国で中心的な役割を担った機関である。IFO は武田薬品工業株式会社研究部において、旧台湾総督府台湾中央研究所(GRIF)と東京大学農学部発酵学教室(ATU, 当時は FAT コレクション)をもとに発足した機関であった。現在は活動を終了し研究助成を主にしているが、集められた菌株は国家プロジェクトで立ち上げられた保存機関である NBRC(製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター)に移管され、その主要なコレクションとなっている。

6. 日本微生物資源学会(JSCC)

日本の研究者が国際生物資源を取り巻く環境の変化に対応する、国内の微生物保存機関のネットワークとして日本微生物資源学会がある。HUT は JSCC の前身となる日本微生物資源連盟(JFCC)の発足時より参加している。JSCC では国内の研究者が国際競争に遅れることなく、いち早く研究に必要な資源を取得し、活用できるような環境を整備することを目的としている。

これまでに生物多様性条約や知的財産権、感染症法の改正などさまざまな環境の変化に対応しており、現在では、膨大なゲノム情報をもつ遺伝子情報 DB との高度な連携を目指して活動し、機関会員の統合データベースである JSCC Strain Database を公開するのみならず、日本微生物資源学会誌(Microbiology and Culture Collections)の出版、カルチャーコレクション委員会、実務担当者会議を通じて会員のサポートを行なっている。HUT ではこれらを通じて最新の情報を得て、業務の参考としている。

7. 今後のカルチャーコレクションの展望

今後のカルチャーコレクションの取り巻く状況の変化や、国内外の研究者のニーズに対応すべく、カルチャーコレクションの今後の展望についてさまざまな模索がなされているが、その主要な展望は以下のようになっている。

(1) 微生物の保存生物資源センター(BRC)

生きた細胞や生物の遺伝子のほか、生態系の機能や遺伝に関わる情報などを保存・供給する機関。培養可能な有機体、細胞、組織と、それらの生体分子、生理、構造に関する情報のデータベースを保持する機関であり、カルチャーコレクションが今後目指す姿であるといえよう。それを定義しているのが後述のガイドラインである。

(2) OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource Centers

BRC の機能と品質と継続性の追求するガイドラインである。BRC のためのベストプラクティスの開発と実施を目的として OECD(経済協力開発機構)で作成された。ベストプラクティスガイドラインの実施と評価 BRC は世界中の遺伝資源や生物多様性の維持と利用の根幹となり、グローバル BRC ネットワークは生物科学とその持続可能な成長に寄与する能力を向上させるために下支えする基盤の決定的な要素であるとされている。

(3) ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)

NBRP(ナショナルバイオリソースプロジェクト)はライフサイエンスの研究に広く用いられる実験材料としてのバイオリソースのうち、国が特に重要と認めたものについて、体系的な収集、保存、提供体制を整備することを目的とした国家プロジェクトである。広大はネットアイツメガエルとキクにて参加している。

8. 今後の HUT の発展に向けて

今後、HUT の存在意義を強化するためにもバイオテクノロジー分野での研究支援機能の充実を図る必要性があると考えられ、以下のような活動を予定している。

(1) 微生物株の品質向上とコレクションの充実

NBARD を利用し、16/18S 等のシーケンスによる再同定を行い、菌株の品質を向上するとともに最新の分類に基づいた情報提供を行う。これに付随して、非公開株の公開株化も行う。また、寄託に関する情報提供も充実させて、研究者が寄託しやすいように環境を整備するとともに、環境からの分離収集しコレ

クションの充実を図りたい。

(2) データベースの充実

JSCC Strain Database へ参加するとともに前項で取得されたシーケンス情報も WEB データベースへ追加したいと考えている。

(3) 安全性の向上

アンプル化しておらず、凍結保存品のみの菌株が非公開株を中心に多数残っている。これらのアンプル化を順次行い、災害等で長時間の停電が発生しても菌株が失われないようにする必要がある。また、フリーザーのバックアップ電源が確保できるかどうかあわせて検討したい。

参考文献

1) L-乾燥法による微生物株の長期保存法

坂根健, 西井忠止, 伊藤忠義, 見方洪三郎,

Microbiol.Cult.Coll. Vol.12, No.2, 91-97, 1996.

2) JFCC 誕生のころ

長谷川武治, Microbiol.Cult.Coll. Vol.17, No.2, 49-51, 2001.

3) 日本微生物資源学会 50 周年記念 ～50 年間の歩みと私が学んだもの～

日下大器, Microbiol.Cult.Coll. Vol.17, No.2, 67-68, 2001.

4) わが国のカルチャーコレクションの系譜と活動

駒形和男, Microbiol.Cult.Coll. Vol.20, No.2, 65-72, 2004.

5) OECD における生物資源センター (BRC) タスクフォースのアウトプット

鈴木健一朗, 菅原秀明, Microbiol.Cult.Coll. Vol.23, No.1, 43-48, 2007.