

微生物インベントリーの利用法を探る

農業環境インベントリーセンター 微生物分類研究室長
對馬 誠也

1. はじめに

環境中に生息する微生物は、地球上での物質循環に深く関わり、生態系のバランスを維持する上で大きな役割を果たしている。このため、これら微生物の環境中での役割を明らかにすることは、環境保全を進める上で極めて重要である。また、これら微生物は、地球上に生じた各種の環境変化に適応してきた結果、様々な機能を有していると考えられており、農業、医療、工業等の産業界で有用な生物機能を探索する際のジーンプールとしても貴重な存在である。こうした微生物に関する情報の収集・保存を行い、それらを利活用することが現在求められている。

1992年に開催された地球サミットで生物多様性条約が採択されて以来、国内外で生物多様性に関する様々な取り組みがなされている。例えば2001年、種や標本レベルのデータ整備、分散型データベースの構築、さらには将来的に遺伝子、生態レベルの情報収集などを目的として、国際的科学協力プロジェクト「地球規模生物多様性情報機構」(GBIF)が設立された。同じく2001年に、OECDは「生物資源センター」(BRC)報告書において、BRCの必要性を示して各国にその強化を呼びかけた。わが国では2002年4月に「かづさ」に国内最大規模の生物遺伝資源センター(NBRC)が開設され、微生物の収集・保存・分譲、およびそれらの遺伝子情報の提供を開始した。このように、微生物情報の収集・活用への要望は著しく高まっているが、多様な微生物情報の収集には、各専門機関が様々な観点から情報収集・管理体制を充実させる必要がある。

農業環境技術研究所では、農業環境資源の様々な情報を集積し、農業環境の変動予測、保全・管理に役立てるため「農業環境インベントリー(在庫目録)の構築」を研究の柱の1つに掲げ、現在「農業環境インベントリーのためのフレームの構築」を進めている。ここでは、この中の一つとして、微生物分類研究室が中心となって取り組んでいる「微生物インベントリー」に関して、これまでの研究成果と今後の課題について報告する。

2. 微生物とは

微生物は小さな生物の総称であり、その中には、原核生物(細菌、藍色細菌、古細菌)と真核生物の一部(糸状菌、酵母、原生動物など)があり、便宜上、ウイルスなども包含される。これらの微生物が環境中にどのくらい生息しているのかに関しては、いくつかの報告がある。たとえば、植物の葉面に生息する細菌は、1cm²当たり平均10⁶~10⁷個、地球全体でみると約10²⁶個と推定されている。また、土壌中には、土壌1cm³当たり約10⁹~10¹⁰個の細菌が生存しているとの報告もある。このように、環境中には膨大な数の微生物が存在し、生態系における同化的代謝、異化的代謝の主要部分を担い、あるものは病原微生物として他種生物の増殖に関係し、またある微生物が生産する生理活性物質が産業に広く利用されている。しかし、既知の微生物種は、上記に示した総微生物のうち1~7%といわれており、微生物情報の収集は他の生物に比べ著しく遅れているといわれている。

3. 微生物インベントリー構築上の問題

微生物インベントリー、すなわち、「微生物の目録」を作成することは簡単ではない。たとえば、安藤ら(2003)は、微生物情報収集に関して、「日本およびアジアにおける分類学キャパシティ調査の結果、微生物分類学へのニーズは高いにもかかわらず、そのインフラ、人材、予算等の状況が極めて悪く、早急の改善が要望されている」と述べ、分類情報の収集を行うためにいくつかの問題があることを記している。

一方、微生物機能や生態の研究者は、必ずしもデータベース化を目的として研究を行っているわけではなく、たとえ多数の微生物が仮に何らかの機能等を持っていても研究者自身にとって不必要な微生物株やその情報に関しては廃棄することはしばしばある。逆に、得られた微生物情報が今後の研究の役に立つ可能性があると考えられる場合には、なかなか提供したがないということもある。中には、情報提供をしたいがデータ量が少なく「インベントリー」情報としては不足と考える研究者もいるようである。

しかし、微生物インベントリーは、こうした微生物情報をもっている研究者の協力がなければ作ることができない。このため、これらの研究者の協力が得られるようなシステム作りや、少ない情報でもニーズの高いと思われる情報を有効活用できるシステムの構築が必要と思われた。

次に、微生物情報が集まっても、ユーザーに利用されなければ意味がなく、人目につかなければ利用されない。このためには、情報の宣伝やユーザーが利用しやすい検索システムの開発が必要である。特に、微生物へのニーズは実に多様であることから、データベースが多くなるにしたがって、ユーザーが簡単に目的の情報を得られるようなシステムの構築が必要と考えた。

以下に、現在公開中の微生物インベントリーについて紹介する。

4. 微生物インベントリーの概要

微生物情報は、様々な分野のユーザーによる利用が期待される。そのため、微生物情報の提供に当たっても、それぞれのデータベースのあった提供法を考えた。そこで、まず1) データベース単独での利用、2) 統合検索システムの中での利用、が可能な「微生物インベントリー」(<http://cse.niaes.affrc.go.jp/seya.html>)を作成した(図1)。

1) 全体の概要

本システムは「総合検索」、「データベース一覧」、「総合検索の使い方」、「他の微生物情報紹介」からなっている。「総合検索」が本システムの本体でデータベースからキーワードによる検索を行うことができる。しかし、データベースによっては、目的とする情報をどのようなキーワードで検索できるのかが難しい場合がある。そのため、「総合検索の使い方」では、総合検索の利用法を簡単に解説した。今インベントリーではとくに、多数のデータベースから情報を検索できるようにしているが、個々のデータベースは、多様な情報が入力されている。そのため、ディクショナリー機能をつけてデータベース毎に各項目(Item)に入力されているデータ内容を表示することにした。これにより、ユーザーは検索対象とするデータベースの項目毎のデータ内容をあらかじめ印刷しておく、それを見ながら簡単にキーワード検索ができるようになっている。「データベース一覧」では、個々のデータベースの簡単な紹介を行った。さらに、「その他微生物情報」では微生物保存機関や国際的な微生物情報ネットワークを中心として関連サイトを紹介した。リンクでそれぞれのサイトに入ることが可能である。



図1 微生物インベントリーのホームページ

2) 微生物データベース単独での利用

各種微生物データベース毎にホームページを作成して単独にWeb上で公開した。単独の微生物データベースの場合、目的に応じて他の機関へのリンク掲載依頼等による普及が可能なことがあげられる。そのため、宣伝の仕方によっては、より多くのユーザーに活用してもらえると考えた。なお、今後は、統合検索システムの中でも利用していく予定である。

このサイトでは、現在「日本野生植物寄生・共生菌類目録」と「日本産糸状菌類図鑑」を公開しており、それぞれのデータベースは、世界規模生物多様性情報機構GBIF・Japan (Global Biodiversity Information Facility, Japan) の「生物多様性情報サイト」(<http://bio.tokyo.jst.go.jp/GBIF/gbif/>)からも閲覧することができるようになっている。以下にデータベースの概略を記す。

(1) 「日本野生植物寄生・共生菌類目録」(日本語版、英語版)

1910年代から2002年にかけて日本で報告された95科1626種の野生標本植物に寄生、共生あるいは単に生息しているサビ菌、クロボ菌、エンドファイト(内生菌)など312属1302種の糸状菌および細菌の学名、異名、発生状況等を含む文献等を記載し、日本野生植物寄生・共生菌類目録(月星ら、2002)として発行した。さらに、それをデータベース化してWeb上で公開した(<http://cse.niaes.affrc.go.jp/seya/mokuroku/mokuroku.html>)。

このページは菌名および植物名の一覧表からの検索や、キーワードによる検索が可能である。目的とする菌類の学名、異名、和名および文献名を表示できる(図2)。

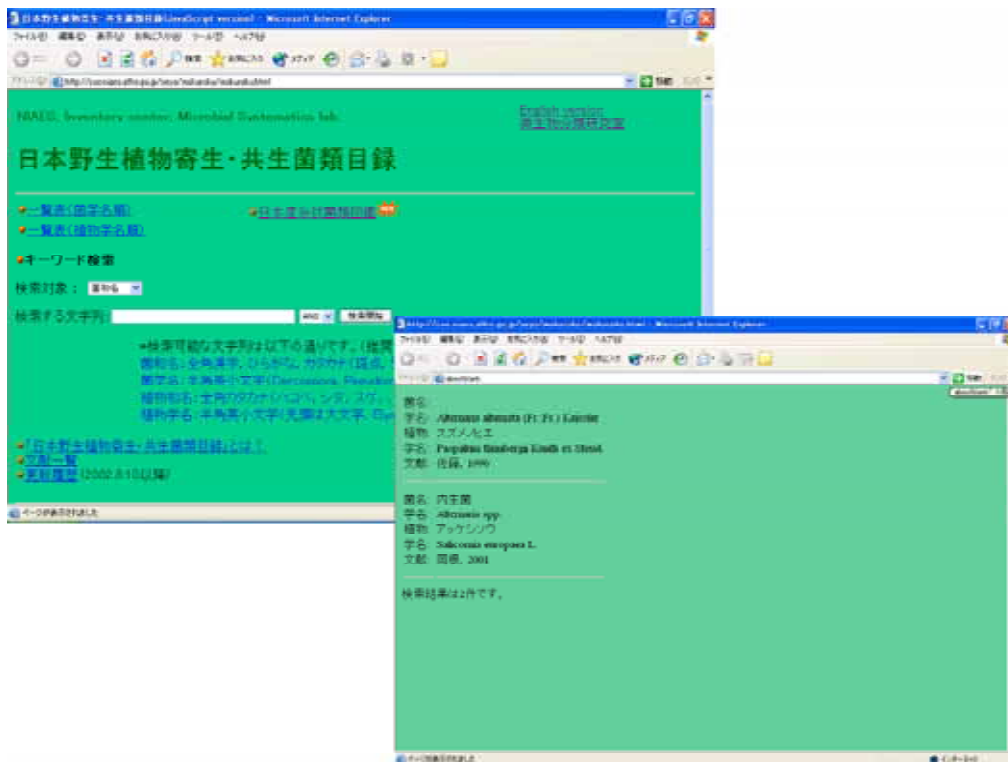


図 2 . 日本野生植物寄生・共生菌類目録
 左上：HP画面、右下：検索結果（Alternariaで検索）

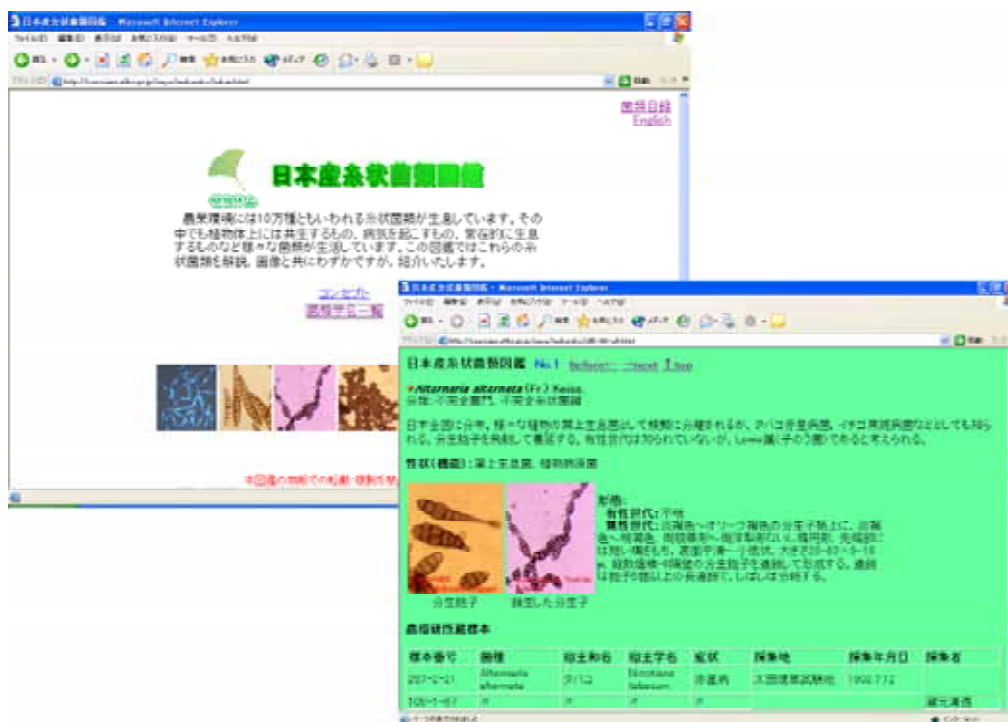


図 3 . 日本産糸状菌類目録
 左上：HP画面、右下：検索結果（Alternariaで検索）

(2) 「日本産糸状菌類目録」(日本語版、英語版)(図 3)

上記の目録化した菌類のうち、糸状菌48種について、学名、分類、発生状況、無性世代ならびに有性世代の画像、病徴画像および農環研所蔵標本リスト等を記載し「日本産糸状菌類図鑑」

として公開した (<http://cse.niaes.affrc.go.jp/seya/mokuroku/zukan.html>)。この情報は菌類目録の検索結果とリンクしており、検索した菌類の一部について画像等を閲覧できる。

3) 統合検索システムを用いた微生物情報の活用

微生物の中にはしばしば複数の機能をもつものが報告されている。たとえば、ある種の細菌は人畜や植物の病原菌として研究されている一方で、化学合成物質の分解菌として研究されているものがある。また、そうした細菌はしばしば環境中(土壌、植物等)から分離されているため、それらの分離源情報は、その微生物を探索している研究者には貴重な情報と考えられるが、専門家であっても、自分の関心以外の情報については把握できないことが多い。しかし、近年、環境問題への関心の高まりとともに、微生物の実用化試験や、室内の実験で取り扱う際に、対象微生物の人体への影響(バイオセーフティレベル等)や、環境中での役割、生息場所等に関する情報がすぐに検索できることは研究推進等や技術開発上必要になってきた。しかし、各研究者が作成する微生物の情報は機能、生態、分類、ゲノム情報等々、それぞれ研究目的に応じてつくられた限られた情報であることから、ここでは、1つのキーワードにより複数のデータベースから同時に関連情報を検索できることが重要と考えた。そのため、本インベントリでは、以下のようなデータベースに関して、分散型統合検索データベース(国立遺伝研宮崎ら作成、一部改変)により必要な情報を一度に検索できるようにした。

(1) 全体の構成

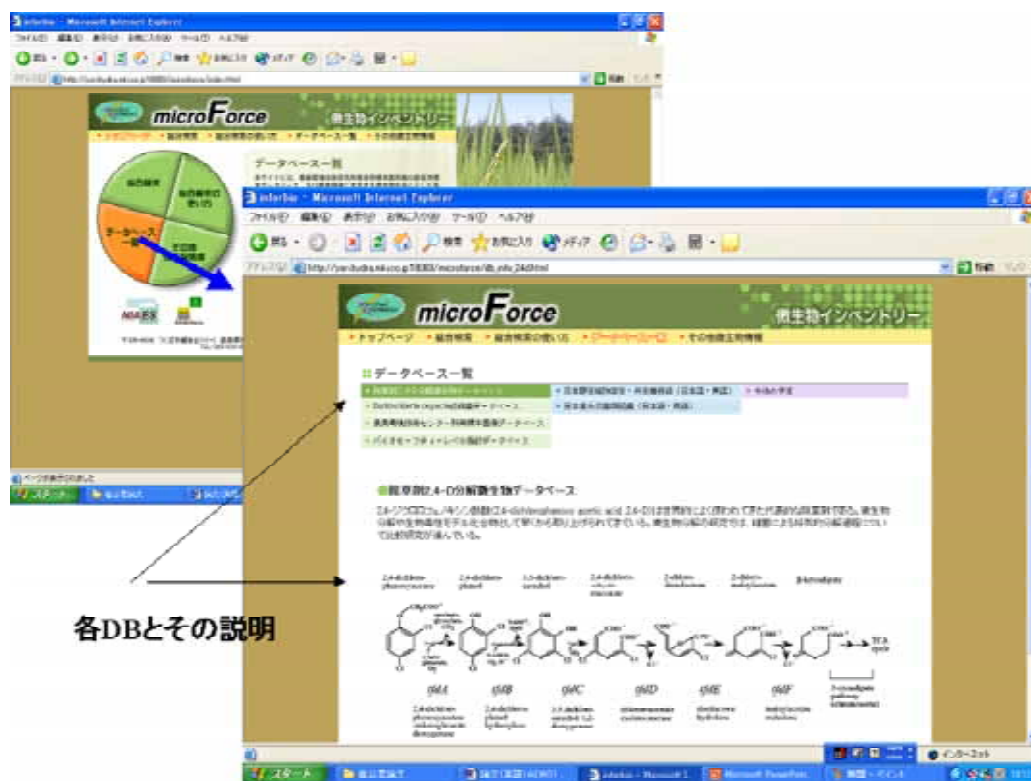
本システムは「総合検索」、「データベース一覧」、「総合検索の使い方」、「他の微生物情報紹介」から構築されている。「総合検索」が本システムの本体でデータベースからキーワードによる検索を行うことができる。しかし、データベースによっては、目的とする情報をどのようなキーワードで検索できるのかが難しい場合がある。そのため、「総合検索の使い方」では、総合検索の利用法を簡単に解説するとともに、データベース毎にデクショナリーをつけて項目(Item)毎に入力されているデータ内容を表示することにした。これにより、ユーザーは検索対象とするデータベースの項目毎のデータ内容をあらかじめ印刷しておく、簡単にキーワード検索ができるようになっている。「データベース一覧」では、個々のデータベースの簡単な紹介を行った(図4)。さらに、「他の微生物情報」では微生物保存機関や国際的な微生物情報ネットワークを中心として関連サイトを紹介した。リンクでそれぞれのサイトに入ることが可能である。

(2) これまでに公開されたデータベース

a. 「除草剤2,4-D分解菌データベース」

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-dichlorophenoxy acetic acid, 2,4-D)は世界的によく使われてきた代表的な除草剤であり、微生物分解や生物毒性のモデル化合物として早くから取り上げられてきている。微生物分解の研究では、細菌による好氣的分解過程について比較的研究が進んでいる。その分解経路では、まずジオキシゲナーゼTfdAにより側鎖が切断されて2,4-dichlorophenolとなり、これがヒドロキシラーゼTfdBにより3,5-dichlorocatecholに変換される。3,5-dichlorocatecholは、芳香環開裂から始まるクロロカテコール分解経路(modified ortho-cleavage pathway)により完全分解される。分解経路は、このように複数の異なる酵素反応から成り、関与する分解遺伝子群も複数の由来からなると考えられている。そのため、各分解酵素・遺伝子群やそれらの発現調節機構について生化学的・分子生物学的な解析が進めら

れるとともに、進化学的な観点から分解菌・分解遺伝子の生態学的解析も行われており、そうした研究へのニーズに役立てるために、ここでは、2,4-Dの分解菌に関わる文献情報（161件）を公開した。菌株名，種名，分解遺伝子名および初出文献名などで検索でき、分解遺伝子の塩基配列や研究状況も知ることができる。



各DBとその説明

図4．データベース一覧画面
(2,4-D分解菌説明)

b. 「Burkholderia cepacia 近縁菌データベース」

Burkholderia cepacia やその近縁細菌は、広く環境中に生息するが、人畜や植物に病気を起こす有害系統を含む一方で、農薬等の化学合成化合物の分解菌としても知られる系統もあり、環境修復に有効な細菌として多くの研究が行われている。ここでは、Burkholderia属細菌に関する情報（49件）を公開した。農学，工学，医学分野の情報を初めて網羅的に整理している。菌株名，種名，採取場所，人畜および植物に対する病原性等で検索できる。

c. 「農業環境技術研究所微生物標本館所蔵標本データベース」

農業環境技術研究所農業環境インベントリーセンターの微生物標本館は、農林水産省傘下の独立行政法人としては数少ない微生物標本保存施設であり、寄託された微生物ホロタイプ標本にNIAESナンバーをつけて保存している。さらに、1880年代から現在に至るまでの約120年間に寄贈・採取された生物乾燥標本、微生物乾燥さく葉標本等約5,000点を保存しており、古くは、菌類学者であるLagerheim, G.V.（採取期間；1887-1901）やSydow, P.（採取期間；1896-1902）などの標本が保管されている。このサイトで初めてサビ菌，クロボ菌等の微生物標本画像（図3）を中心に、寄主植物や採集場所などに関わる情報（448件）を公開した。微生物種名や寄主植物名などで検索できる。

d. 「バイオセーフティレベル (日本細菌学会作成)」

この「Biosafety level」データベースは、細菌を取り扱う時の注意を喚起するために、日本細菌学会のバイオセーフティ委員会が作成した「病原細菌に関するバイオセーフティ指針」(日本細菌学会のHPで公開中)にある「付表：病原菌のバイオセーフティレベル分類」を日本細菌学会の許可を得て掲載した。この指針には、J S B (日本細菌学会)、D S M (ドイツ)、N I I D (感染症研究所)のバイオセーフティレベル分類が掲載されている。

(3) 分散型データ統合検索システム

本システムでは、一つのキーワードを入力するだけで、指定した複数のデータベースから関連情報を一度に検索することが可能である。図5 a. bはその一例を示したものである。ここでは、(2)の4つのデータベースを選び(図5 a)、その後、検索画面で“Genus = Burkholderia”を入力して検索すると、4つのデータベースから *Burkholderia* 属細菌に関連する情報が画面に表示される(図5 b)。これにより、「*Burkholderia cepacia* 近縁菌データベース」以外の3つのデータベースのいずれにもキーワードに該当する情報があることが瞬時にわかるようになっている。

4) 地理情報システムとの融合

微生物インベントリはあくまでも微生物情報に関するものであるが、微生物情報のさらなる有効活用を考えた時には、将来的には農業環境インベントリの中で他の分野の情報との融合が必要である。現在、まだ試験段階ではあるが、微生物の採取場所を地理情報とともに表示するシステムを農業環境インベントリセンターで構築中である。

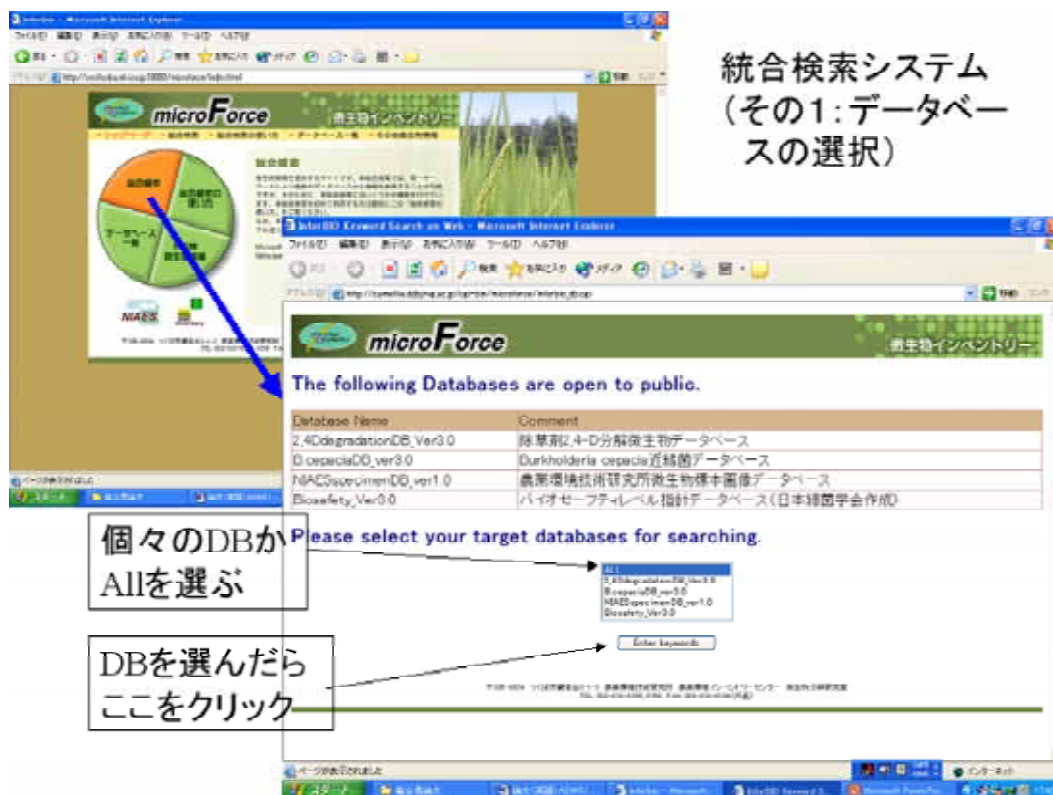


図5 a. 統合検索システムによるデータベースの選択画面

統合検索システム
(その2: 検索結果の表示)

4つのDBにある Burkholderia属細菌の情報を一度に見ることができる。

2,4D分解菌DB

Burkholderia属菌DB

農環研標本館所蔵微生物標本DB

バイオセーフティレベルDB

微生物の特徴・分離場所、安全性を同時に知ることができる

RID	Genus	Species	Other cluster	Isolated else
2a	Burkholderia	cepacia	***	
BRK001	Burkholderia	mallei	***	Canada(Quebec)
GSV90	Burkholderia	sp.	***	

RID	Genus	Species	Other cluster	Isolated else
PC-3	Burkholderia	属菌DB	**	
PC-5	MAFF	327267	**	
PC-7	MAFF	327268	**	
PC-14	MAFF	327269	**	
PC-15	MAFF	327270	**	
PC-23	MAFF	327271	**	

RID	Genus	Species	Other cluster	Isolated else
262-1-57	Burkholderia			teosin
262-2-15	Burkholderia	andropogonis (Smith) Gillis et al.		sorghu
217-1-57	Burkholderia	glumae (Kurita & Tanei) Urakami et al.		rice
208-1-16	Burkholderia	caryophylli (Burkholder) Yabuuchi et al.		carrot

RID	Genus	Species
3	Burkholderia	mallei
4	Burkholderia	pseudomallei
114	Burkholderia	cepacia
115	Burkholderia	vietnamiensis

図5 b . 統合検索システムによる検索結果
('genus=Burkholderia'で検索)

3 . 今後の課題：微生物インベントリーの活用

1) データベースの充実

微生物インベントリー、すなわち微生物情報の目録を利活用してもらうためには、やはり内容の質と量が重要である。その場合、「質」としては、やはりユーザが求めるもの、シーズとして重要なもの、長期的視点に立った微生物情報の蓄積といういくつかの点を考慮したデータベースの作成が必要と思われる。また、「量」としては、少ない情報でもデータベースとして利用することと、かつある微生物（あるいは機能）に関する膨大な情報がある場合には、ユーザが使いやすい検索システムの構築も必要である。

また、データベースを増やすためには、情報提供者である多くの研究がデータを提供しても良いと思われるようなシステムを考える必要もあろう。同様に、一つの研究機関で多数の微生物関連情報をデータベース化することには限界がある。そのため、今後は微生物情報収集システム等の構築も必要と思われる。

2) 微生物情報機能解析システム等による活用

現在公開している「微生物インベントリー」では、残念ながら微生物情報の詳細な解析（系統解析等）を行うことができない。そのため、今後は、蓄積したデータベースをただ表示するだけでなく、それらの数値情報等を解析するためのシステムの導入が必要である。そのための一つの方法として、現在国立遺伝学研究所のご協力により、国立遺伝研が開発した多機能解析ソフト（InforBIO）を改変したCD-ROM版の「微生物インベントリー」解析システムを作成している。

さらに将来的には、近年分子生物学等でITを駆使した研究が進められているように、農業環境中の微生物から得られる膨大な情報をもとに、バイオインフォマティクスを利用した解析による農業、産業界での活用法の開発が必要であろう。その中には、同一地点の土壌、植物等における微生物群集データを経時的に蓄積して各種環境要因等の関係を調べることができるシステム等の構築などがあげられる。

参考文献

- 西尾道徳・大畑貫一編（1998）農業環境を守る微生物利用技術，327pp，家の光協会，東京．
- Lindow, S. E. and M. T. Brandl（2003）Microbiology of the phyllosphere, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 1875-1883．
- 染谷 孝（2003）蛍光染色法による土壌微生物の検出法，*海洋ノ号外*，33，14-21．
- 安藤勝彦・渡辺 信（2003）日本におけるGTIと微生物分類学，*Microbiol. Cult. Coll.*，109-113．
- 月星隆雄・吉田重信・篠原弘亮・對馬誠也（2002）日本野生植物寄生・共生菌類目録，農業環境技術研究所資料，26，1-169．
- 農業環境インベントリーセンター編（2002）インベントリー，第1号，80pp，農業環境技術研究所農業環境インベントリーセンター，つくば．
- 農業環境インベントリーセンター編（2003）インベントリー，第2号，67pp，農業環境技術研究所農業環境インベントリーセンター，つくば．