

極限環境 生物学会誌

第19卷合併号

Journal of Japanese Society for Extremophiles

目次

巻頭言	2
研究最前線	4
ミニレビュー	6
学会誌投稿規定・執筆要領	39
会則・細則	40
運営体制	43

巻頭言

極限環境生物学会の未来



国立研究開発法人海洋研究開発機構
超先鋭研究開発部門 若井 暁

私は心配している。極限環境生物学会の行く末を。

私は学生時代を岡山大学農学部の微生物機能学研究室（上村一雄教授・杉尾剛教授）で過ごした。当時、好酸性の鉄・硫黄酸化細菌の研究をしていたが、極限環境生物学会には参加したことがなく、もっぱら他学会にしか参加したことがなかった。学位取得後、製品評価技術基盤機構で原山重明博士の下で微生物による金属腐食の研究に携わり、その後、広島大学の微生物機能学研究室（三本木至宏教授）で高度好塩性菌の研究を開始した。この頃から極限環境生物学会に顔を出すようになったので、私の学会参加歴は高々10年程度である。その後、神戸大学のバイオ生産工学研究室（近藤昭彦教授・荻野千秋教授）で麹菌を用いた物質生産の研究に携わり、極限環境生物研究から離れたが、麹菌研究に極限環境生物由来酵素を使うなど工夫して毎年のように参加させて頂いていた。2019年4月より、海洋研究開発機構でどっぷり極限環境微生物の研究を行えているが、これまでの繋がりの細かい自分が巻頭言を書くなどおこがましいので一度は断ろうと思ったのだが、

若輩者の私にこのタイミングで敢えて声を掛けて頂いた意味を再度考えて、執筆をさせて頂くことにした。

キャリアも浅く、優れた研究成果をこの分野で残しているわけでもない自分が何を書くのか…いや、何を書くべきなのか考えた末、最初の一文に辿り着いた。私は極限環境生物という響きが好きである。この学会も好きである。だからこそ敢えて思うことがある。このままでは、この学会はいつか消えてなくなってしまうのではないだろうかという心配である。今年度（令和2年度）の年会は、新型コロナウイルス感染症拡大の影響で、オンライン開催となり、年会自体は大成功であったと思うが、発表件数が例年よりも少なかった。これは、様々な事情があるので仕方がないことであるが、それ以前に年々年会が寂しくなりつつあることを肌で感じている。

では、サイエンス全体の中で極限環境生物分野の研究が衰退しているかというところという訳ではない、多くの他の学会で極限環境生物の研究が発表されている。別に極限環境生物学会が閉鎖的な環境で新参者を拒むわけではなく、それは私が今巻頭言を書いていることから分かると思う。一方で、多くの他学会には参加しているが極限環境生物学会には参加しない人の意見を聞くと、次のような回答がよくある。「極限環境の研究はしていないから場違いかなと思って。」きっとそれは表の回答であり、翌年に発表するという訳でもないで裏の回答は、「対象が狭くて参加しても得るものが少ない。」といことではないかと勘繰っている。

学会の参加メリットは、人的交流が特に大きいと個人的に考えている。研究成果を発表するだけであれば、論文を書いていけばいい。でも、それでも学会に参加するのは、学会で色々な人と会って話をする事だろう。研究発表をして、質疑応答して、時間が足らなければ、休憩時間にも議論を展開し、研究の話をしていたかと思

えば、最近どう？という世間話などもその勢いでしてしまうこともあるが、学会における人的交流は気の合う友達を見つけることではなく、本当はサイエンスの広がりには貢献している。最近どう？という流れから、再び研究の話に戻ったり、共同研究の持ちかけであったり、研究費獲得に関する話題であったり、●●でポストクを探しているけど良い人いない？といったキャリア形成に関する情報であったり、サイエンスの社会組織を維持・発展するための情報が飛び交っていたりする。まあ、雑談だけで終わってしまう事も多々あるが…

私は、サイエンス (Science) とは自然現象 (Nature) を共通言語化することで理解するためのものであり、人間が効率的に活動するために生み出した哲学分野であると考えている。すなわち、サイエンスは人のためにあり、人が積極的に相互作用することで発展すると考えている。そして、人が積極的に相互作用する場が学会と考えている。一万人規模の大きな学会で極限環境生物研究を発表しているが極限環境生物学会には参加していない研究者をこの学会に引き込むことが、極限環境生物学会の発展的な未来には欠かせないと考えている。このまま何もしなければ、20年後、50年後、この極限環境生物学会はなくなっているかもしれない。

ただそんな悲観的なことだけを考えるのではなく、将来的には他学会に分散してしまっている極限環境生物研究の英知を本学会に集約するために何かできないだろうか、そんなことを考えながら、日々極限環境微生物と戯れている。来年の年会には今まで参加したことのない研究者を一人でも誘い込んで、極限環境生物研究の深まりだけでなく、広がりにも貢献できれば幸いです。

研究最前線



東洋大学 理工学部 応用化学科 生命工学研究室 峯岸 宏明

当学会の初代会長である故掘越弘毅先生と宇佐美論先生が主催する東洋大学工学部応用化学科（現：理工学部応用化学科）生命工学研究室への配属が私の極限環境微生物研究の事始めです。幸いなことに学部4年次から海洋科学技術センター（現：国立研究開発法人海洋研究開発機構）で、研究生活を始められることになりました。学部4年次では「穿刺型スクリーニング法による地殻コアサンプルからの窒素固定微生物の分離」、修士課程では「ポリガラクトナーゼを分泌する出芽酵母の系統解析とその生化学的研究」、博士課程では「酵母菌の極限環境適応とその応用に関する研究」と一貫したテーマではなく、様々なテーマを経験できたことが、今の私にとっては大きな財産となっています。

さて、学位取得後は何をやるかと考えていた頃に、亀倉正博先生と私の生涯の研究テーマの1つである好塩性古細菌に出会いました。とにかく、人がやっていない事をやりたいというモチベーションだけで、デパートやインターネットを通じて市販天日

塩を買いあさり、私の好塩性古細菌研究の最初のテーマである、好酸性好塩性古細菌の分離を行いました。その当時の報告されていた *Halobacteria* 綱に属する好塩性古細菌の酸性側における増殖限界 pH は pH 5.0 付近であり、これ以下で増殖可能なものは報告されていませんでした。まずは手を動かさず、成功すれば理論は後からついてくる、その思いでひたすらスクリーニングをしたことを覚えています。理論を詰めて、研究を行う事は研究者として当たり前です。しかし、私は何より自分の直感を信じるのが好きな性分ですので、好アルカリ性好塩性古細菌の培地にはマグネシウムが入っていない、中性では 20 g 程度の硫酸マグネシウムが含まれている、それでは好酸性好塩性古細菌の分離にはもっと入れてみよう、20%の塩化ナトリウムと 10%の塩化マグネシウムを含む pH 4.2 の培地を無理矢理作り、増殖 pH 範囲 pH 4.0-6.0、増殖最適 pH 4.4-4.5 の新規好塩性古細菌 *Halarchaeum acidiphilum* MH1-52-1 株の分離に至りました。

新規の好塩性古細菌も分離でき、次のターゲットは酵素にしよう、当時の博士課程の学生と寒天分解酵素アガラーゼの研究を始めました。さて元来、全ての塩の由来は海です。アガラーゼの報告の多くは海洋性細菌ですから、塩に数多く存在する好塩性古細菌もアガラーゼを持っているに違いないという直感を信じ、研究を始めました。ここでも直感があたり、発見したアガラーゼの反応最適温度は70°Cで、80°Cで60分間の加熱処理後も活性が低下せず、95°Cにおける半減時間は約60分であり非常に耐熱性に優れた酵素であることが分かりました。遺伝子配列を調べてみると、既知のアガラーゼとは事なり、非常に新規性が高い酵素であることも分かりました（今後の発表にご期待下さい）。

現在は好塩菌を”Polyextremophiles”として捉え、これらの産業利用への可能性を探り、生命の限界を知るためのツールとして様々な研究テーマにトライしています。また、後輩学生のご実家である酒蔵と共同で日本酒造りにも勤んでいます。また、後輩学生のご実家である酒蔵と共同で日本酒造りにも勤んでいます。

1999年に生命工学研究室の8期生として配属され

た私は、2017年に東洋大学理工学部応用化学科に准教授として着任いたしました。

掘越弘毅先生が作られ、宇佐美先生が引き継ぎ大きくした、この伝統ある生命工学研究室の学生は、現在で29期生になります。

来年度は節目の30期です。博士課程1名、修士課程8名、学部10名の学生達と、好塩菌に関することは何でもやってやるというモチベーションで、新型コロナに負けず研究活動に邁進していきたいと思えます。

最後に、私の研究者としての基本を教えて下さった掘越弘毅先生、宇佐美論先生、阿部文快先生（青山学院大学）、好塩菌研究のきっかけを与えて下さりました亀倉正博先生、研究者として首の皮一枚の所を救って下さった高井研先生（JAMSTEC）、布浦拓郎先生（JAMSTEC）、いつも私のわがままを聞いて一緒に研究を行ってくれた嶋根康弘先生（JAMSTEC）、越後輝敦先生（トミーデジタルバイオロジー株式会社）に、この場をお借りして御礼申し上げます。



Tsuji M, Kudoh S, Uchida M and Hoshino T

Towards the industrial use of fungi living in the Arctic and Antarctic

北極と南極に生息する菌類の産業利用を目指して

旭川工業高等専門学校 物質化学工学科 ^{a)}
 情報・システム研究機構 国立極地研究所 ^{b)}
 総合研究大学院大学 極域科学専攻 ^{c)}
 八戸工業大学 工学部 生命環境科学科 ^{d)}
 辻 雅晴 ^{a)}, 工藤 栄 ^{b,c)}, 内田 雅己 ^{b,c)}, 星野 保 ^{d)}

^{a)}Department of Materials Chemistry, National Institute of Technology, Asahikawa College^{b)}National Institute of Polar Research (NIPR)^{c)}Department of Polar Science, The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI)^{d)}Department of Life and Environmental Science, Faculty of Engineering, Hachinohe Institute of Technology

Corresponding author: Masaharu Tsuji, spindletuber@gmail.com

Phone & Fax: +81-166-55-8021

Received: Jan. 5, 2021/ Revised: Feb. 9, 2021/ Accepted: Feb. 22, 2021

南極域における菌類探索の歴史

国連環境計画によると地球上には約 870 万種の生物が存在し、そのうち菌類は約 61 万種を占める地球上では昆虫に次ぐ多様性に富んだ生物と推計されている ⁹⁾。これまでに北極域からは数万種、南極域からは約 1000 種の菌類が報告されている ²⁾。

南極域からの菌類の報告は、おそらく 1897 年～1899 年にかけて南極域に遠征したベルギーの探検隊が南極半島近くのダンコ島から *Sclerotium antarcticum* を採取したのが始まりだろう ¹⁾。この探検隊には、後に世界で初めて南極点に到達したアムンセンが参加していた。日本の南極地域観測隊による菌類の報告は、1961 年に椿啓介博士 (1924 年～2005) によって第 3 次南極地域観測隊が採取したサンプルから子のう菌類 8 種、担子菌類 1 種を分離したと報告したのが始まりだ ²⁸⁾。1965 年までに昭和基地周辺からは、子のう菌類 12 種、担子菌類 4 種が報告された ^{11, 28-30)}。その後、日本の南極観測では第 48 次南極地域観測隊に星野が、第 51 次南極地域観測隊

に大園享司博士 (現同志社大学) が参加し、その結果を 2013 年に報告するまで約 50 年間、昭和基地周辺から菌類の報告はなく、2012 年までに基地周辺から報告された菌類の割合は南極全体から報告された菌類の 2%以下だった (表 1)。

	昭和基地周辺	南極全体	割合
ツボカビ	0 種	33 種	0.0%
接合菌類	0 種	85 種	0.0%
子のう菌類	12 種	652 種	1.8%
担子菌類	4 種	229 種	1.7%

表 1. 2012 年までの昭和基地周辺における菌類調査の状況

南極昭和基地周辺における菌類の多様性調査

そこで我々は、昭和基地がある東オングル島と東オングル島から約 60km 離れたスカルプスネス露岩域におい

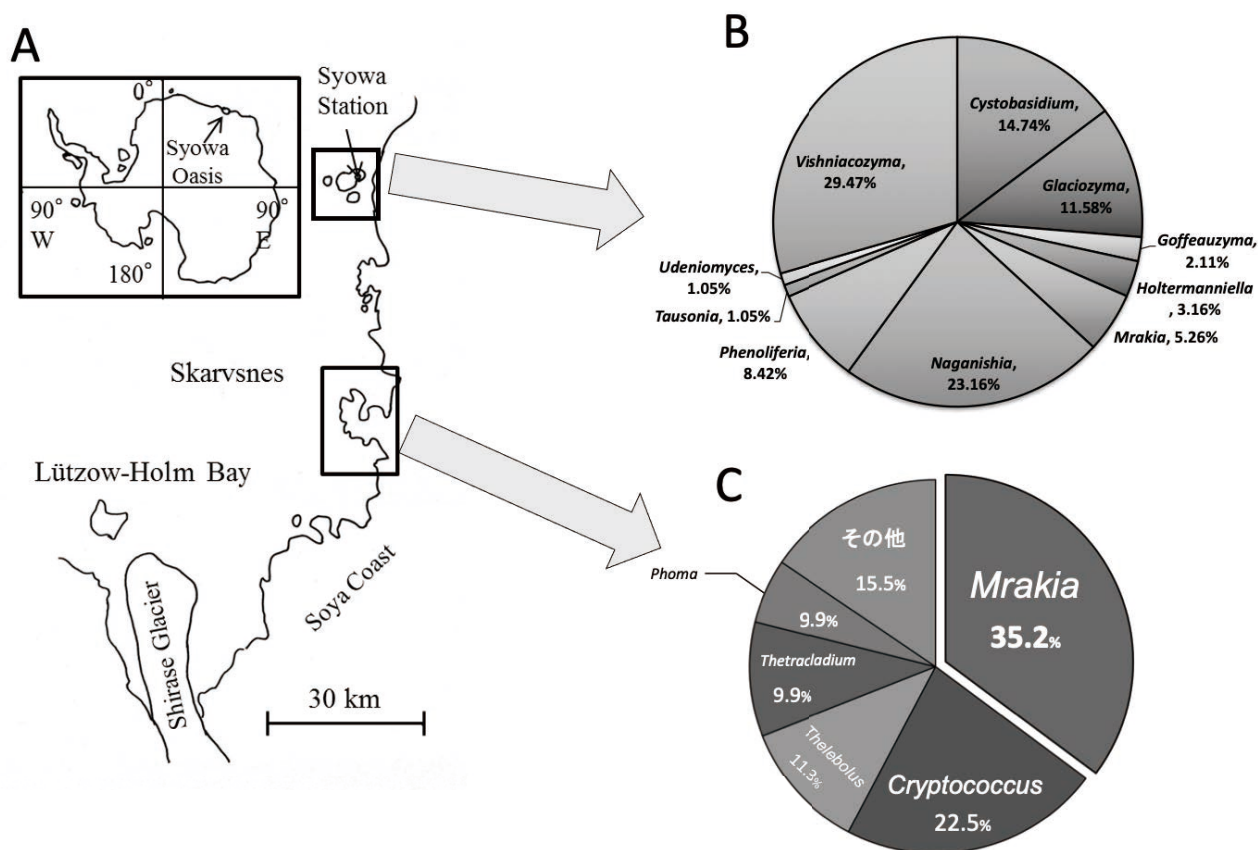


図 1. 昭和基地周辺における菌類多様性

A. 昭和基地周辺の地図、B. 東オングル島での菌類の多様性、C. スカルプスネス露岩域における菌類の多様性

て菌類の多様性調査を行った。その結果、東オングル島では *Vishniacozyma* 属や *Naganishia* 属、*Cystobasidium* 属などの菌類が優占していた¹³⁾のに対し、スカルプスネス露岩域では *Mrakia* 属、*Cryptococcus* 属、*Thelabolus* 属などの菌類が優占しており¹⁵⁾、両地域では菌類の多様性が大きく異なっていた(図 1)。この菌類調査の中で、筆者らは *Cystobasidium tubakii* と *C. ongulense* という 2 種の新種の菌類を日本の南極観測史上初めて報告することができた²⁵⁾。これらの研究の成果もあり、2013 年から 2019 年までの 7 年間で昭和基地周辺から報告した菌類の種数は 16 種から 77 種と約 4.8 倍まで増加した(表 2)¹⁴⁾。

	昭和基地周辺	南極全体	割合
ツボカビ	0 種	33 種	0.0%
接合菌類	0 種	85 種	0.0%
子のう菌類	61 種	652 種	9.4%
担子菌類	16 種	229 種	7.0%

表 2. 2019 年までの昭和基地周辺における菌類調査の状況

氷点下での成長能と氷点下で活性のある酵素

細胞内の温度調節ができない菌類の生命活動は、外気温や水温など細胞外環境の影響を受ける。このため、菌類にとって南極や北極のような極限環境では、低温による細胞内凍結や酵素活性の低下などにより、生命活動を維持することが困難である。日本の南極観測の拠点である昭和基地周辺では、平均最高気温がマイナスの期間が 1 年のうち 10 ヶ月を占めている。しかし先述の通り、南極域からは 1000 種以上、南極域の中でも特に環境の厳しい大陸性南極からは 300 種を超える菌類が報告されている²⁾。南極に生息している菌類は -40℃ を下回る極限環境下でも生き抜く能力を持っているが、これらの菌類は果たして氷点下の環境で休眠しているのだろうか、それとも活動しているのだろうか。

そこで筆頭著者は、昭和基地がある東オングル島から分離した 10℃ が至適増殖温度の好冷菌から 25℃ が至適増殖温度の耐冷菌まで特徴が様々な 16 種の菌類を選抜し -3℃ で培養し、氷点下における成長能を調べてみた。インキュベータなどの温度の誤差を考えると、-3℃ は YPD 液体培地やポテト・デキ

ストロース寒天培地が凍らない下限の温度である。 -3°C での培養試験の結果、至適増殖温度や生育上限温度に関係なく、全ての種で -3°C での成長を確認することが出来た(表 3)¹³⁾。南極に生息している菌類は、 -35°C まで呼吸をしているという報告⁹⁾もあることから、氷点下でも休眠せずに活動しているようだ¹³⁾。

筆者らは、文部科学省の北極域研究推進プロジェクト(ArCS)とその後継プロジェクトである北極研究加速プロジェクト(ArCS II)の中で世界最北端の有人島と知られているカナダ高緯度北極にあるエルズミア島での菌類調査も行っている。これらの調査

の結果、北極からは *Gelidaterema psychrophila* と *Mrakia arctica*、*Mrakia hoshinonis*、*Vishniacozyma ellesmerensis* の 4 種を新種の菌類として報告しており²¹⁻²⁴⁾、北緯 83 度を超える地点から分離したこれら 4 種の菌類全てが、南極の菌類と同様に -3°C でも成長できることを明らかにしている²¹⁻²⁴⁾。

南極や北極に生息している菌類は -3°C でも細胞外の高分子を分解し、細胞内に取り込み成長できるということは、つまり -3°C でも活性のある酵素を持っており、その酵素を細胞外に分泌する能力を持っていることを示す。そこで筆頭著者は、氷点下での成長能を調べたのと同じ菌を使用し氷点下での酵素の

種名	-3°C での成長	至適増殖温度	生育上限温度
<i>Cystobasidium lysinophilum</i>	+	25°C	30°C
<i>Cystobasidium ongulense</i>	+	20°C	30°C
<i>Cystobasidium tubakii</i>	+	$15-17^{\circ}\text{C}$	25°C
<i>Glaciozyma antarctica</i>	+	10°C	15°C
<i>Glaciozyma martinii</i>	+	15°C	17°C
<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	+	20°C	25°C
<i>Holtermanniella wattica</i>	+	15°C	25°C
<i>Mrakia gelida</i>	+	15°C	20°C
<i>Naganishia adeliensis</i>	+	25°C	30°C
<i>Naganishia albidosimilis</i>	+	25°C	30°C
<i>Naganishia friedmannii</i>	+	20°C	25°C
<i>Phenoliferia glacialis</i>	+	15°C	17°C
<i>Tausonia pullulans</i>	+	15°C	25°C
<i>Udeniomyces puniceus</i>	+	20°C	25°C
<i>Vishniacozyma carnescens</i>	+	20°C	25°C
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	+	17°C	25°C

表 3. 東オングル島から分離した菌類の成長能

培養実験はポテトデキストロース寒天培地を用いて行った。+は培養開始、7日以内に明確に成長したことを示す。

分泌能を調べた。菌体外酵素の分泌能の計算は、次の式を用いて行った。(菌体外酵素の分泌能) = (クリアーゾーンの直径) / (コロニーの直径)¹³⁾。菌体外酵素の分泌能で、数値が 2.0 より大きい場合は、高い酵素分泌能を持っていると評価した。南極の東オングル島から分離した 16 種の菌類とカナダ高緯度北極から分離した 3 種の菌類について、-3°Cでのリパーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼの酵素について分泌試験の結果を表 4 としてまとめた。リパーゼでは南極の東オングル島から分離した *Holtermanniella wattica*、*Tausonia pullulans*、*Goffeauzyma gilvescens* が、カナダのエルズミア島から分離した *Mrakia*

arctica と *M. hoshinonis* が、またセルラーゼでは、南極の東オングル島から分離した *Udeniomyces puniceus* が、カナダのエルズミア島から分離した *M. arctica* と *M. hoshinonis* が -3°Cでも高い酵素分泌能を示した。今回の酵素分泌試験では、南極と北極から分離した菌類の中に-3°Cでも高いプロテアーゼの分泌能を示す菌はいなかった。特にセルラーゼとリパーゼでは、北極のエルズミア島から分離した *M. arctica* と *M. hoshinonis* が南極の菌より高い分泌能を示した(表 4)。これらの結果から、南極や北極に生息している菌類は氷点下でも酵素を分泌する能力があり、その酵素は氷点下でも活性があることから、

分離場所	種名	Lipase	Cellulase	Protease
		-3 °C	-3 °C	-3 °C
南極	<i>Cystobasidium lysinophilum</i>	-	-	-
南極	<i>Cystobasidium ongulense</i>	0.43±0.05	0.17±0.06	-
南極	<i>Cystobasidium tubakii</i>	0.19±0.07	0.13±0.01	-
南極	<i>Glaciozyma antarctica</i>	0.41±0.13	-	-
南極	<i>Glaciozyma martinii</i>	-	-	-
南極	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	2.50±0.20	-	-
南極	<i>Holtermanniella wattica</i>	2.27±0.09	-	-
南極	<i>Mrakia gelida</i>	-	0.35±0.07	-
南極	<i>Naganishia adeliensis</i>	1.23±0.41	-	0.40±0.12
南極	<i>Naganishia albidosimilis</i>	0.84±0.16	-	-
南極	<i>Naganishia friedmannii</i>	-	-	1.11±0.08
南極	<i>Phenoliferia glacialis</i>	-	-	-
南極	<i>Tausonia pullulans</i>	2.60±0.33	1.88±0.21	-
南極	<i>Udeniomyces puniceus</i>	-	2.92±0.37	0.86±0.35
南極	<i>Vishniacozyma carnescens</i>	0.56±0.31	0.49±0.22	-
南極	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	0.62±0.03	-	0.49±0.18
北極	<i>Vishniacozyma ellesmerensis</i>	1.56±0.16	-	-
北極	<i>Mrakia arctica</i>	6.15±0.68	5.34±0.78	0.75 ± 0.12
北極	<i>Mrakia hoshinonis</i>	4.29±0.34	2.55±0.20	1.53±0.05

表 4. 南極と北極から分離した菌類の-3°Cでの酵素分泌能

-は未検出を表す。(菌体外酵素の分泌能) = (クリアーゾーンの直径) / (コロニーの直径)

極地のような1年の大半が氷点下の環境において、これらの菌類は有機物の分解者として重要な役割を担っていることが示唆された。

南極産菌類の産業利用

ここでは、南極産菌類を産業利用に向けた筆者らの取り組みを3つほど紹介したい。

1. 低温で乳脂肪を分解可能な菌類の探索とその酪農排水処理への応用

乳脂肪は低温で凝固することに加え、低温では微生物の活動自体も低下する。このことから、乳脂肪は低温下で微生物による分解が最も難しい物質の1つである。北海道東部のような酪農が盛んな地域では、冬期の水温が約3°Cまで低下すること³¹⁾から、乳脂肪を大量に含む酪農排水は微生物による浄化処理が十分に処理されないまま野外に放出され、海などの汚染の原因となっており、漁業への悪影響が懸念されている。この問題を解決するため、筆者らは低温で高い乳脂肪分解能と成長能を持つ菌類を探索することとした。南極や北極のスバルバル諸島、日本の大雪山系から計300株を超える菌株を分離し、これらの菌株について低温での乳脂肪分解能を確認したところ、南極のスカルブスネス露岩域の試料から分離された担子菌酵母の一種 *Mrakia* 属菌のみが、低温での乳脂肪分解能を持っていることが分かった。南極産 *Mrakia* 属菌の中でも *Mrakia blollopis* SK-4 株が4°Cと10°Cという低温で最も乳脂肪分解能が高いことが明らかとなった²⁶⁾。

そこで、実際に北海道の酪農施設で利用されている活性汚泥(通常の活性汚泥)と、通常の活性汚泥に SK-4 株を添加した活性汚泥(SK-4 株入り活性汚泥)を10°C

でバッチ式(1つの槽内で、汚水投入、ばっ気、沈殿、処理水の排出を行う方法)で牛乳を基質としたモデル酪農排水の処理を24時間行った。その結果、SK-4 株入り活性汚泥では、通常の活性汚泥と比べて乳脂肪除去率が約25%向上することが確認された(図2)¹⁹⁾。

この低温での乳脂肪分解を担った SK-4 株が持つリパーゼを精製し、その特徴を調べてみたところ、至適活性温度が60-65°C、65°Cまで温度安定性があり、至適活性 pH は pH8-9 で、pH3-10 の間で安定だった。さらに SK-4 株が持つリパーゼはエタノール やメタノールなどの有機溶媒存在下、塩化マグネシウム、塩化鉄(II)や塩化マンガンなどの2価の金属イオン存在下でも安定であり、C4-C18 までの幅広い基質も分解可能という非常に安定性の高いリパーゼであることが分かった²⁰⁾。これらの研究成果は特許第5867954号「乳脂肪分解能を有する南極産担子菌酵母およびその利用方法」として登録され、現在、民間企業がこの特許技術を利用した排水処理システムを商品として販売している。この商品は南極産微生物自体を使用した国内で初めての例であり、今後、寒冷地における生活排水や工業排水の処理、さらに昭和基地での排水処理への利用も可能と考えている。また、SK-4 株が持つ安定性の高いリパーゼ自体にも産業利用できる魅力を兼ね備えていると考えている。

2. 低温下でエタノール発酵可能な南極産菌類の酒類醸造への応用

南極域でも特に環境の厳しい大陸性南極では、*Mrakia* 属菌は菌類の優占種であり、この地域で唯一エタノール発酵が可能な菌類である。*Mrakia* 属菌のエタノール発酵については古くは1960年代から知られており、低温では一般的な酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)より発酵効率が高いという報告もある¹⁰⁾。しかし、イタリアの南極観測隊が雪や氷から分離した *Mrakia* 属菌を利用しビールを醸造したところ、6°Cではエタノール濃度が1~2%(v/v)で発酵が止まり、15°Cでもエタノール濃度が2%(v/v)で発酵が止まることから、*Mrakia* 属菌の中に2%(v/v)以上のエタノールを生産したという報告はなかった¹²⁾。そこで筆者らは、南極の *Mrakia* 属菌から2%(v/v)以上のエタノールを生産する株を探索するため、昭和基地周辺から分離した27株の *Mrakia* 属菌についてエタノール生産能を調べた。その結果、27株中8株が2%(v/v)以上のエタノールを生産することができ、エタノールの生産能には菌株間でかなり差があることが分かった¹⁸⁾。*M. blollopis* では6%(v/v)以上のエタノールを生産する SK-4 株とその近縁な株と、約2%(v/v)程度のエタノールを生産する

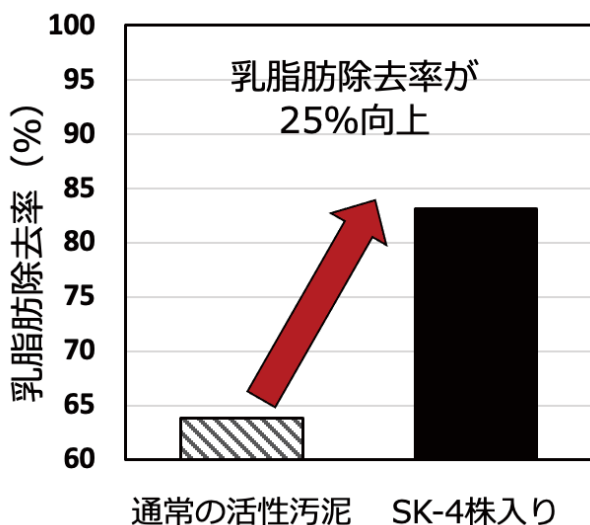


図2. 南極産 *Mrakia blollopis* SK-4 株によるモデル酪農排水処理試験の結果

TKG1-2 株とその近縁な株の 2 群に分かれるようだ。この 2 つの群はエタノール耐性が大きく異なり、SK-4 株に代表されるエタノール生産能が高い菌株では、培地中のエタノール濃度が 8%でも増殖が可能であったのに対し、TKG1-2 株を代表とするエタノール生産能が低い菌株では、4%のエタノール濃度までしか増殖できなかった。SK-4 株と TKG1-2 株を 10°Cと-3°Cでの成長能を比較してみたところ、SK-4 株は-3°Cで培養すると成長速度は緩やかになるが、最終的には 10°Cで培養した時と同じ細胞数まで増殖した。一方、TKG1-2 株は-3°Cで培養すると 10°Cで培養した時の半分以下の細胞数までしか増殖できなかった。細胞内の温度調整ができない菌類にとって、氷点下は強いストレスであることから、南極産 *M. blollopis* ではエタノール生産能が高い菌株はエタノール耐性能が高い、つまりストレス耐性が高い株はエタノール発酵能が高く、低温での成長に優れているということが明らかとなった¹⁸⁾。

南極産菌類 *Mrakia* 属菌を利用した酒類の醸造は、先述のイタリアの南極観測隊が雪や氷から分離した *Mrakia* 属菌からビールを醸造したという報告が初めてだと思われる²²⁾。このイタリアの南極観測隊が分離した *Mrakia* 属菌の 2%(v/v)以下のエタノールしか生産できないという特徴を逆に活かし、イタリアの研究グループは、低アルコールビールの製造に利用を検討している³⁾。また、中国で製造されているラズベリーワインで、発酵中のもろみに含まれている菌類の約 80%が *Mrakia* 属菌だったという報告もある⁵⁾。

筆者らが南極から分離した *M. blollopis* SK-4 株は、最大で約 6%(v/v)のエタノールを生産する¹⁶⁾ことから、こ

れまで発見されている南極産菌類の中でも最も高いエタノール発酵能を持っている。SK-4 株は、野外での使用を前提とした簡単な安全性試験を行っており、ゲノム解析や代謝解析でも、これまでに毒素の生産は確認されていない。そこで筆者らは、SK-4 株を利用した日本酒の醸造に酒類総合研究所の協力を得て挑戦した。発酵条件等は Tsuji et al. (2019)¹⁷⁾に詳しく記載されているので、そちらをご覧ください¹⁷⁾。SK-4 株単独、15°Cの温度条件で発酵を行ったところ、発酵開始から 1 週間が経過してもエタノール濃度が約 2%(v/v)を超えることはなかった。我々はこの発酵が止まる現象を原料米が糖化されることにより、もろみ中にグルコースが蓄積することで起こる浸透圧ストレスが原因と考えた。そこで、我々は、もろみ中に蓄積するグルコースを消費するため SK-4 株と清酒酵母 K701 株との共培養を試みることにした。様々な発酵条件を検討した結果、SK-4 株が 40%、K701 株が 60%の割合(40%SK-4 株添加条件)で発酵させると最も良好な結果が得られた。日本酒度は清酒酵母のみの場合、約 9.7、40% SK-4 株添加条件では約 11.9 となった。酸度は清酒酵母のみの場合、約 3.5、40% SK-4 株添加条件の場合、約 3.4 であった。また、日本酒のフルーティーな香りの成分である酢酸イソアミルとカプロン酸アミルの濃度は 40%SK-4 株添加条件でわずかに増加した(図 3)¹⁷⁾。これらの結果から、40%SK-4 株添加条件で醸造した日本酒は、清酒酵母 K701 株単独で醸造した日本酒より若干フルーティーな香りのする日本酒になることが明らかとなった。筆頭著者は南極産菌類単独での日本酒の醸造を目指し、今後、成長速度が早く、発酵能が高い南極産菌類の育種を行って行く予定である。

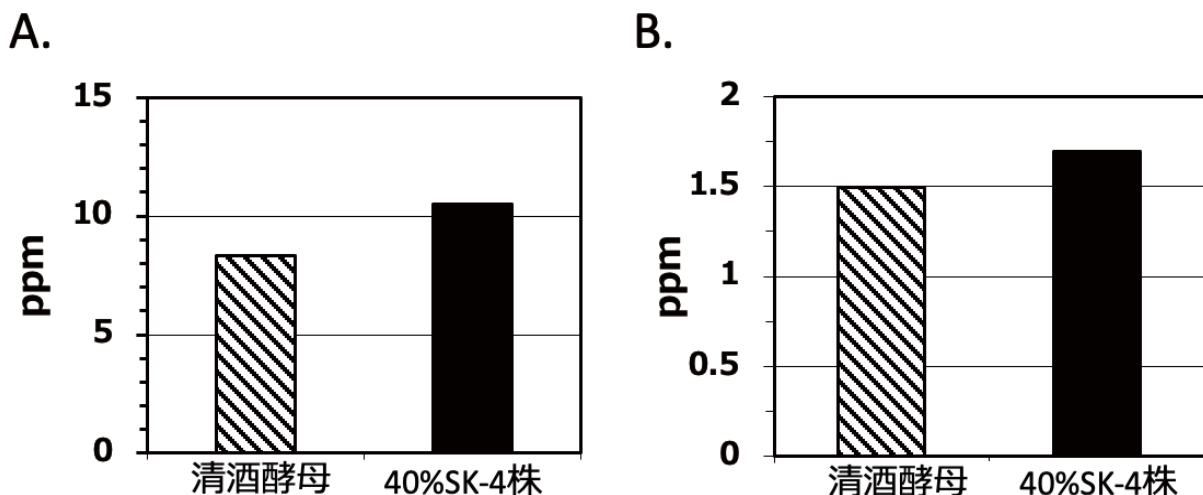


図 3. 日本酒の香気成分分析の結果

A. 酢酸イソアミル、B. カプロン酸エチル

清酒酵母は K701 株、40%SK-4 株は 60% K701 株—40% *Mrakia blollopis* SK-4 株をそれぞれ使用し、日本酒を醸造した。40%SK-4 株の条件で醸造した日本酒の方が若干、香気成分の濃度が向上している。

これまで *Mrakia* 属菌は食経験がない菌類であり、ヒトでの安全性試験が未実施という考えが主流であったため、この菌を利用して醸造した酒類を商品化し、流通させるには「食経験と安全性」という2つの大きな壁があった。しかし、実際には中国のラズベリーワインに *Mrakia* 属菌が使われていることや日本の焼津港で水揚げされたスズキからも *Mrakia* 属菌が検出されている⁴⁾、さらに冷凍ヨーグルトからもこの菌が検出される⁷⁾など、ヒトは *Mrakia* 属菌の食経験が皆無ではない。ただ、筆頭著者は日本において非伝統的な菌類を使用した酒類を流通させるには、いまだ大きな壁があると感じている。しかし、南極産菌類を利用した酒類の醸造は、その壁を乗り越えるだけの魅力やロマンがあると考えている。南極産菌類を利用した酒類を作り、流通させたいと考えている人は、ぜひ筆頭著者までご連絡いただきたい。

3. 南極菌類が産生する二次代謝産物

南極の海底堆積物から分離された *Mrakia frigida* 2E00797 株は、カニ病原性酵母 *Metschnikowia bicuspidata* に対してキレートキシン(ある種の酵母が菌体外に分泌し、他の酵母の生育を阻害する物質のこと)を持っている⁷⁾。また南極の菌類には抗真菌活性、抗マラリア活性、殺線虫活性などを示すものがある⁸⁾ことから、南極産菌類は、深海や宇宙などに生息している微生物と並び新たな微生物資源として期待されている。しかし、日本国内では南極産菌類が持つ二次代謝産物の探索を行った研究例が少なかったことから、筆者らは南極昭和基地周辺から分離した *Mrakia blollopis* 6 株、*Cystobasidium ongulense* 2 株、*Tausonia pullulans* 1 株

の計 9 株について-3°Cで特異的に細胞外に分泌される二次代謝産物を LC-MS で解析を行った。その結果を表 5 として示す。これらの物質は LC-MS で検出され、同定された化合物名を示している。また南極産菌類が分泌した物質が表に記載した作用を持っているかは、確認していないのでご注意ください。*Tausonia pullulans* は β 受容体遮断作用があり狭心症治療薬の原料であるアセプトロール、抗腫瘍作用のあるエポチロン D を-3°Cで産生していた。抗腫瘍作用のあるアルトレタミンは *Mrakia blollopis*、*Cystobasidium ongulense* が産生した。*C. ongulense* は同じく抗腫瘍作用があると知られているテガフルも産生していた。*M. blollopis* は氷点下で様々な二次代謝産物を産生しており、その代表的なものは、脂肪の取込み抑制作用があるエボジアミン、エタノール吸収阻害作用のあるカメリアサポニン B₂、逆転写酵素阻害作用がありヌクレオシド系抗ウイルス薬の原料であるザルシタビン、降血圧作用があり抗高血圧薬として利用されているピナシジル、気管支拡張作用があり喘息薬として利用されているピルブテロール、HIV 感染阻止作用があるペルタール A、抗ヒスタミン薬として利用されているメタフェニレン、殺菌作用のあるメタラキシルなどの物質を氷点下で産生していた²⁰⁾。しかし、筆者らが二次代謝産物を分析した南極産菌類の 9 株は 1 株あたり約 1200-2600 の物質を LC-MS で検出したが、その 9 割以上が未知の物質であり、同定できた物質の多くは医薬品原料として知られている物であった。このことから、改めて南極産菌類が持つ二次代謝産物は新規医薬品・健康食品原料探索の微生物資源として貴重

化合物名	化学式	主な作用	種名
アセプトロール	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₄	β 受容体遮断	<i>Tausonia pullulans</i>
アルトレタミン	C ₉ H ₁₈ N ₆	抗腫瘍	<i>Mrakia blollopis</i> <i>Cystobasidium ongulense</i>
エボジアミン	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O	脂肪取り込み抑制	<i>Mrakia blollopis</i>
エポチロン D	C ₂₇ H ₄₁ N O ₅ S	抗腫瘍	<i>Tausonia pullulans</i>
カメリアサポニン B ₂	C ₅₈ H ₉₀ O ₂₆	エタノール吸収阻害	<i>Mrakia blollopis</i>
ザルシタビン	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₃	逆転写酵素阻害	<i>Mrakia blollopis</i>
テガフル	C ₈ H ₉ F N ₂ O ₃	抗腫瘍	<i>Cystobasidium ongulense</i>
ピナシジル	C ₁₃ H ₁₉ N ₅	降血圧	<i>Mrakia blollopis</i>
ピルブテロール	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃	気管支拡張	<i>Mrakia blollopis</i>
ペルタール A	C ₄₂ H ₅₈ O ₄	HIV 感染阻止	<i>Mrakia blollopis</i>
メタフェニレン	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ S	抗ヒスタミン	<i>Mrakia blollopis</i>
メタラキシル	C ₁₅ H ₂₁ N O ₄	殺菌	<i>Mrakia blollopis</i>

表 5. 南極産菌類が-3°Cで産生が誘導される二次代謝産物

な存在であることが分かった。

北極と南極に生息する菌類の産業利用を目指して

北極は8カ国の領土から成り立っていることから、北極のサンプルから分離した菌類を産業利用する場合は、事前に利益分配などの取り決めを試料提供国と行う必要がある。しかし南極は現在、領有権の主張が凍結されていることから、利益分配の取り決めを行う必要はない。また日本において病原菌や植物病原菌以外の南極産菌類を含む微生物の産業利用について法的な規制はない。これまで紹介したように南極に生息している菌類は、氷点下でも成長する能力や氷点下でも活性のある酵素など低温で優れた特徴を持っている。これらの特徴は低温でのバイオプロセスや排水処理、食品加工や洗剤など様々な分野での利用が期待できる。また南極産菌類は、氷点下で特異的に細胞外に分泌する二次代謝産物を持っており、そのほとんどが未知の化合物であったことから、新規医薬品・健康食品原料としての利用も期待できる。先述の通り日本の研究チームによって、これまでに77種の南極産菌類が報告されている。これは南極の中でも特に環境の厳しい大陸性南極から報告された菌類の約1/4を占めている。しかし、筆頭著者が調べた限りでは、日本の研究チームによって昭和基地周辺から分離された77種の南極産菌類のうち、日本の菌株保存機関である理化学研究所のJCMや製品評価技術基盤機構(NITE)のNBRCに寄託されている南極産菌類はわずか5種8株のみであった。日本では南極産菌類は、研究者個人によって管理されており、菌株保存機関には寄託されておらず、研究者の移動や退職によって、これまで分離されてきた貴重な南極産菌類の多くが廃棄されているものと推測される。

また、南極産菌類の全ゲノム情報は、氷点下でも成長できる秘密や氷点下でも活性のある酵素の遺伝子情報、さらに新規二次代謝産物の遺伝子情報などが含まれており、南極産菌類の全ゲノム情報は遺伝子資源としても貴重である。しかし、南極産菌類の全ゲノム情報は、筆頭著者が知る限りわずか20株しか登録されていない。

このように南極産菌類は微生物資源として注目を集めながら、日本では微生物資源としても遺伝子資源としての基盤も形成されていないのが現状である。

(世界で南極産菌類を保存し、微生物資源として基盤形成を行なっている国は皆無と思われる。)

そこで筆頭著者は、南極産菌類を含む微生物を長期的に保存することで、微生物資源として基盤形成を

確立し、これらの菌株を研究機関の研究者だけでなく、企業にも広く自由に利用できるような状況を作りたい。しかし、菌株が公開されているだけでは、企業がすぐに産業利用することは難しい。残念ながら日本では南極産菌類の収集と保存を行う機関も、南極産菌類を利用した基礎研究と企業の研究開発のギャップを埋める研究を行う研究機関や研究センターもない。

そこで、この2つの機能を持った研究センターを大学か研究所に設置することで、南極産菌類の収集と保存、さらに産業利用をも推進させたい。

低温での優れた特徴や遺伝子を持っている南極産菌類を広く研究者や民間企業に利用してもらおう事で、南極産菌類がバイオ分野でイノベーションを起こし、今なら日本がこの分野で世界をリードする存在になり得る。

また、南極産菌類の菌株を研究者や企業が利用する際に納める手数料や企業が南極産菌類を利用して得た利益の一部で基金を設立し、研究センターの運営費用の他に南極観測や南極の環境保全、さらに南極の研究を行う若手研究者の育成支援などに利用したいとも考えている。筆頭著者は、こうした取り組みが、将来的に持続可能な研究センターと南極観測に繋がると考えている。研究センターの実現に向けて、ぜひ皆さんのお力添えをお願い致します。

ArCSやArCSIIプロジェクトでカナダ高緯度北極の試料から分離した微生物も南極産菌類と同様に微生物資源として魅力的な存在である。そこで筆者らは、カナダ高緯度北極から分離した微生物をカナダへ返還し、将来的にこれらの管理を先住民や地域住民に委ねたい。先住民や地域住民が管理することで、企業がカナダ高緯度北極の微生物を産業利用して得た利益の一部が地域住民に還元される仕組みにできると考えている。また、こうしたカナダでの取り組みは、北欧など他の地域にも波及させることができると考えている。こちらの取り組みについても、粘り強く行っていきたい。

参考文献

- 1) Boomer, E., and Rousseau, M. 1900. Note préliminaire sur les champignons recueillis par l'Expedition Antarctique Belge. *Bull. Acad. R. Sci. Belgiq. Clas. Sci.* 8: 640–646.
- 2) Bridge, P.D., and Spooner, B.M. 2012. Non-lichenized Antarctic fungi: transient visitors or members of a cryptic ecosystem?

- Fungal Ecol.* 5: 381-394.
- 3) De Francesco, G., Sannino, C., Sileoni, V., Marconi, O., Filippucci, S., Tasselli, G., and Turchetti, B. 2018. *Mrakia gelida* in brewing process: An innovative production of low alcohol beer using a psychrophilic yeast strain. *Food microbiol.*, 76: 354–362.
 - 4) Komagata, K., and Nakase, T. 1965. New species of the genus *Candida* isolated from frozen foods. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 11: 255–267.
 - 5) Li, H., Jiang, D., Liu, W., Yang, Y., Zhang, Y., Jin, C., and Sun S. 2020. Comparison of fermentation behaviors and properties of raspberry wines by spontaneous and controlled alcoholic fermentations. *Food Res. Int.* 128: 108801.
 - 6) Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B., and Worm, B. 2011. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biol.* 9(8): e1001127.
 - 7) Moreira, S.R., Schwan, R.F., de Carvalho, P., and Wheals, A.E. 2001. Isolation and identification of yeasts and filamentous fungi from yoghurts in Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 32: 117–122.
 - 8) Ogaki, M. B., Coelho, L. C., Vieira, R., Neto, A. A., Zani, C. L., Alves, T. M., Junior, P.S.A., Murta, S.M.F., Barbosa, E.C., Oliveira, J.G., Ceravolo, I.P., Pereira, P.O., Cota, B.B., Viana, R.O., Alves, V.S., and Rosa, L.H. 2020. Cultivable fungi present in deep-sea sediments of Antarctica: taxonomy, diversity, and bioprospecting of bioactive compounds. *Extremophiles*, 24(2), 227-238.
 - 9) Panikov, N.S., and Sizova, M.V. 2007. Growth kinetics of microorganisms isolated from Alaskan soil and permafrost in solid media frozen down to -35°C. *FEMS Microbiol. Ecol.* 59: 500–512.
 - 10) Sinclair, N.A., and Stokes, J.L. 1965. Obligately Psychrophilic Yeasts from the Polar Regions *Can. J. Microbiol.* 11: 259–269.
 - 11) Soneda, M. 1961. On some yeasts from the Antarctic region. *Biol Res Jpn Res Expedition* 15: 3-10.
 - 12) Thomas-Hall, S.R., Turchetti, B., Buzzini, P., Branda, E., Boekhout, T., Theelen B and Watson, K. 2010. Cold-adapted yeasts from Antarctica and Italian alps-description of three novel species: *Mrakia robertii* sp. nov., *Mrakia blollopis* sp. nov. and *Mrakiella niccombsii* sp. nov. *Extremophiles* 14: 47–59.
 - 13) Tsuji, M. 2018. Genetic diversity of yeasts from East Ongul Island, East Antarctica and their extracellular enzymes secretion. *Polar Biol.* 41: 249–258.
 - 14) Tsuji, M. 2018. A catalog of fungi recorded from the vicinity of Syowa Station *Mycoscience*, 59, 319–324.
 - 15) Tsuji, M., Fujiu, S., Xiao, N., Hanada, Y., Kudoh, S., Kondo, H., Tsuda, S., and Hoshino, T. 2013. Cold adaptation of fungi obtained from soil and lake sediment in the Skarvsnes ice-free area, Antarctica *FEMS Microbiol. Lett.* 346: 121–130.
 - 16) Tsuji, M., Goshima, T., Matsushika, A., Kudoh, S., and Hoshino, T. 2013. Direct ethanol fermentation from lignocellulosic biomass by Antarctic Basidiomycetous yeast *Mrakia blollopis* under a low temperature condition. *Cryobiology*, 67:241–243.
 - 17) Tsuji, M., and Hoshino, T. 2019. Ethanol Fermentation by the Basidiomycetous Yeast *Mrakia blollopis* Under Low Temperature Conditions. pp. 110–119. In Tsuji M and Hoshino T (eds),
 - 18) Fungi in Polar Regions. Taylor & Francis Tsuji, M., Kudoh, S., and Hoshino, T. 2016. Ethanol productivity of cryophilic basidiomycetous

- yeast *Mrakia* spp. correlates with ethanol tolerance *Mycoscience*, 57: 42–50.
- 19) Tsuji, M., Kudoh, S., and Hoshino, T. 2019. Dairy Wastewater Treatment under Low-Temperature condition by an Antarctic Basidiomycetous Yeast. pp. 120–132. In Tsuji, M. and Hoshino, T. (eds), *Fungi in Polar Regions*. Taylor & Francis,
 - 20) Tsuji, M., and Kudoh, S. 2020. Soil yeasts in the vicinity of Syowa Station, East Antarctica: their diversity and extracellular enzymes, cold adaptation strategies, and secondary metabolites. *Sustainability*, 12:4518.
 - 21) Tsuji, M., Tanabe, Y., Vincent, W.F., and Uchida, M. 2018. *Mrakia arctica* sp. nov., a new psychrophilic yeast isolated from ice island in the Canadian High Arctic *Mycoscience*, 59: 54–58.
 - 22) Tsuji, M., Tanabe, Y., Vincent, W.F., and Uchida, M. 2018. *Gelidatrema psychrophila* sp. nov., a novel yeast species isolated from an ice island in the Canadian High Arctic *Mycoscience*, 59: 67–70.
 - 23) Tsuji, M., Tanabe, Y., Vincent, W.F., and Uchida, M. 2019. *Vishniacozyma ellesmerensis* sp. nov., a new psychrophilic yeast isolated from a retreating glacier in the Canadian High Arctic. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69: 696–700.
 - 24) Tsuji, M., Tanabe, Y., Vincent, W.F., and Uchida, M. 2019. *Mrakia hoshinonis* sp. nov., a novel psychrophilic yeast isolated from a retreating glacier on Ellesmere Island in the Canadian High Arctic. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69: 944–948.
 - 25) Tsuji, M., Tsujimoto, M., Imura, S. 2017. *Cystobasidium tubakii* and *Cystobasidium ongulense*, new basidiomycetous yeast species isolated from East Ongul Island, East Antarctica. *Mycoscience*, 58: 103–110.
 - 26) Tsuji, M., Yokota, Y., Kudoh, S., and Hoshino, T. 2015. Comparative analysis of milk fat decomposition activity by *Mrakia* spp. isolated from Skarvsnes ice-free area, East Antarctica *Cryobiology*, 70: 293–296.
 - 27) Tsuji, M., Yokota, Y., Shimohara, K., Kudoh, S. and Hoshino, T. 2013. An application of wastewater treatment in a cold environment and stable lipase production of Antarctic basidiomycetous yeast *Mrakia blollopis* *PLOS ONE* 8: e59376.
 - 28) Tubaki, K. 1961a. On some fungi isolated from the Antarctic materials. *Biol Results JARE* 14: 1-9.
 - 29) Tubaki, K. 1961b. Note on some fungi and yeasts from Antarctica. *Antarctic Record (Tokyo)*, 11: 161e162.
 - 30) Tubaki, K., & Asano, I. 1965. Additional species of fungi isolated from the Antarctic materials. *JARE scientific reports. Series E: Biology.* 27: 1–27.
 - 31) 横田祐司、辻雅晴、湯本勲、星野保 2013. 南極産担子菌酵母を利用した低温下でのパーラー排水の活性汚泥処理. 用水と排水, 55(11): 831-835.



Tsujiimoto M

Reproductive strategy and long-term survival of the Antarctic tardigrade

南極に生きるクマムシの繁殖戦略と長期生存能力

慶應義塾大学 環境情報学部
辻本 恵

Faculty of Environment and Information Studies, Keio University, 5322 Endo, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-0882, Japan

Corresponding author: Megumu Tsujimoto, megumu@sfc.keio.ac.jp
Phone: +81-466-49-3420

Received: Jan. 5, 2021/ Revised: Jan. 18, 2021/ Revised: Feb. 2, 2021/ Accepted: Mar. 1, 2021

はじめに、本研究の対象生物であるクマムシ *Acutuncus antarcticus* の生息地である南極の陸上環境を紹介したい。南極の生物というと一般的にはペンギンやクジラ、アザラシなどが広く知られているが、それら象徴的な大型動物は全て海の生物である。ペンギンも、海氷や大陸上に滞在するのは卵を産み、雛を育てる繁殖期間のみであり、その期間を除く通常は海で生息している。南極の海洋環境は、陸上環境とは大きく異なる。大陸から張り出した棚氷や大陸周辺に張り詰めた海氷下の海水は氷点下になるものの、常に液体の水が存在している寒冷環境である。もちろん、低水温の中で生息するという点では生物としての極限環境であり、代表的な南極海洋動物であるペンギンの生存戦略については、国立極地研究所の高橋晃周准教授から説明されている（高橋准教授のミニレビュー参照）。一方で、わたしたちが研究対象としている南極の陸上環境は極低温で凍結しているため、南極大陸上の水分のほとんどは、一年の大半は生物が利用できる液体の状態では存在しない。生物が生命活動を行うことができるのは、生理反応に利用できる水供給のある、雪解け開始後の数カ月未満であると考えられている。南極の陸上環境は、極度の低温や乾燥、限られた繁殖期間という、まさに生物にとっての極限環境である。

極低温で乾燥した南極の陸上環境で生物を確認で

きるのは、大陸の縁辺部に点在する「露岩域」と呼ばれる地域である。露岩域は大陸中央部に比べると温暖で夏の間は 0°C を上回ることが多く、夏が始まるころに冬季に降り積もった雪が急速に融け始め雪解け水が発生するため、陸上の植物や動物はその水を利用することができる。しかし南極の夏は非常に短く、数か月後にはまた氷点下となり、通年では深い湖の底以外に液体の水は存在しない。このような極限環境の大陸上で生きることができるのは、主にコケや地衣類、藻類などの限られた植物と、それら植物や土壌に生息する小さな節足動物と、クマムシ、センチュウ、ワムシなどの微小動物である。クマムシも含めた南極の微小動物は、土壌やコケの群落、湖底植生など様々な陸上環境で広範囲に生息している、南極の陸上生態系の重要な構成要員であるにも関わらず、最近までその生態は謎に包まれていた。

クマムシは、世界中の陸域や海域に生息する微小動物であり、その極限環境耐性能力（乾燥、低温、真空、放射線等）に大きく焦点が当てられ、国内外で耐性能力の限界や、耐性機能の生理学的機構やその遺伝学的な背景に関して様々な研究が進められている^{2) 7) 8) 9) 12)}。一方で、南極の陸上環境で生き抜くにあたっての、生物としての一番の過酷な条件は「繁殖を行える期間の短さ」であると考えられる。極度の乾燥や低温を得意の耐性能力で乗り越えた先



図1 (A) 昭和基地の南に位置する露岩域の一つ、ラングホブデ雪鳥沢での陸上生物調査の様子 (第56次日本南極地域観測隊・中井亮佑氏撮影)。雪解け水の流れ沿いにコケや地衣類が繁茂している。



図1 (B) 別の露岩域であるスカルプスネスのあやめ池での湖沼生物調査の様子 (第56次日本南極地域観測隊・鈴木忠氏撮影)。湖中央にボートで調査をする辻本と中井氏がいる。スカルプスネスには多くの湖沼が点在しており、深さ2m以上あれば湖底は冬季でも凍らず、一部の湖底では「コケ坊主」(産業技術総合研究所の中井亮佑研究員のミニレビュー参照)も生育する。



図1 (C) 南極半島のやや北に位置するシグニー島での陸上生物調査の様子 (British Antarctic Survey 南極調査・Alex P. Taylor氏撮影)。南極域とはいえ、大陸部の昭和基地周辺と比べてかなり温暖なので動植物の多様性も高く、島中至る所にコケや地衣が繁茂し高等植物も自生する。

図1：夏期の南極の陸上環境の例

に、南極のクマムシは非常に短い期間で繁殖ができなければ個体群を存続することができないのである。南極の陸上微小動物が、どのように短い夏期間を乗り切って極限環境を生き抜いているのか、クマムシの「生き様」に迫るため、わたしたちは単為生殖をおこなう南極固有のクマムシ *Acutucuns antarcticus* の飼育系を確立して繁殖生態を調査した。本種を15°Cで飼育したところ、まずは97.6%という高い卵の孵化率を記録した¹⁴⁾。これは、それまでに報告されていた温帯や熱帯などに生息するクマムシ種の孵化率に比べてダントツに高く、この高い繁殖能力は短い夏期間中に非常に有利に働くものと考えられた。さらに、本種には繁殖老化がほとんど見られず、死ぬまでコンスタントに卵を産み続けるとともに、その卵の孵化率は高齢となっても下がらないことが分かった¹⁶⁾。南極の陸上環境で生きる動物は、ごく短い夏季の1シーズンで一生涯を全うすることはなく、一生のうちにおそらく複数回の夏期間を過ごすものと考えられている³⁾。そのように長期の凍結・乾燥される冬期間を挟んで延長される生活史において、繁殖老化が見られないことは複数シーズンにおいても繁殖可能なことを示しており、これも南極の陸上環境を生き抜く繁殖戦略の一つと考えられた。

また、クマムシなどの微小動物については主に乾燥状態での長期生存に関する報告もされてきた⁶⁾。そして近年、30年間以上も凍結していた南極のクマムシが生き還った成果も得られた。1983年11月に南極の昭和基地近くで採取されて凍結保存されていたコケ試料を2014年の5月に解凍したものだ。コケ試料からは *A. antarcticus* が蘇生し、その後の繁殖も確認した(図2)¹⁵⁾。この



図2 30.5年の凍結の後に蘇生した南極のクマムシ *Acutucuns antarcticus* (SB-3系統)。腹部の緑色は餌のクロレラ。スケールは0.1ミリメートル。出典) Tsujimoto *et al.* Cryobiology, 2016¹⁵⁾

報告により、成体では8年、卵では9年が最長だったクマムシの長期生存記録を大幅に更新した。センチウでは過去に32年や39年といった長期生存の古い記録も存在するが、30年以上の保存から蘇生した後の繁殖を記録したのも本研究が初めてだった。この冷凍保存による長期生存能力は南極のセンチウでも報告されている。同様に、昭和基地近くで採取されたコケ試料からも、25年以上の凍結保存のうちにセンチウの *Plectus murrayi* が蘇生し、その後の繁殖も確認された¹¹⁾。もともと9カ月以上の冬期間を凍結した状態で過ごしている南極の陸上環境に生きる微小動物にとって、この冷凍下の長期生存能力も極限環境を生き抜く生存戦略の一つなのかもしれない。

ここまで、南極の陸上環境に生きるクマムシの「極度の低温や乾燥、限られた繁殖期間」という極限環境に焦点を当てた生き様を紹介してきた。南極のクマムシ研究の歴史は意外と長く、ドイツの生物学者フェルディナント・リヒターが、1901年から1903年の間に行われたドイツの南極探検活動によって採取された試料を調べ、東南極域にある死火山から *Macrobotus antarcticus* という新種のクマムシを報告したことからは始まる¹³⁾。なお、この *M. antarcticus* は現在の *Acutuncus antarcticus* である。その後も南極のクマムシ研究は断続的に続けられ、2014年までには南極大陸において59種の陸上クマムシが報告されていた¹⁸⁾ (現在は陸上で60種以上が知られ、海のクマムシ種の報告も増えている⁴⁾)。種の多様性や分布の理解が中心だった南極のクマムシ研究は、2000年代半ばに大きな変化を遂げる。日本のセンチウ研究者である国立遺伝学研究所の鹿児島浩博士が *A. antarcticus* を室内で飼育できることを報告したのだ¹⁰⁾。その後、安定した飼育が可能になったことで *A. antarcticus* の生態解明が進み、複数の系統で繁殖特性や環境関連特性が明らかにされてきている^{1) 5) 17)}。また現在は、各国の研究グループが競って寒冷耐性機能やその機構解明に努めているところだ。このように、近年の国内外での南極クマムシ研究の発展は目覚ましい。今後の極限環境生物研究へのさらなる貢献を期待されたい。

参考文献

1) Altiero, T., Giovannini, I., Guidetti, R., and Rebecchi, L. 2015. Life history traits and reproductive mode of the tardigrade *Acutuncus antarcticus* under laboratory conditions:

strategies to colonize the Antarctic environment. *Hydrobiologia*. 761: 277–291.

- 2) Beltrañ-Pardo, E., Jönsson, K. I., Harms-Ringdahl, M., Haghdoost, S., and Wojcik, A. 2015. Tolerance to gamma radiation in the tardigrade *Hypsibius dujardini* from embryo to adult correlate inversely with cellular proliferation. *PLoS ONE* 10: e0133658.
- 3) Block, W., Lewis Smith, R.I., and Kennedy, A.D. 2009. Strategies of survival and resource exploitation in the Antarctic fellfield ecosystem. *Biol Rev.* 84: 449–484.
- 4) Fujimoto, S., Suzuki, A.C., Ito, M., Tamura, T., and Tsujimoto, M. Marine tardigrades from Lützow-Holm Bay, East Antarctica with the description of a new species. 2020. *Polar Biol.* 43: 679–693.
- 5) Giovannini, I., Altiero, T., Guidetti, R., and Rebecchi, L. 2018. Will the Antarctic tardigrade *Acutuncus antarcticus* be able to withstand environmental stresses related to global climate change? *J Exp Biol.* 221: jeb160622
- 6) Guidetti, R., Jönsson, K.I. 2002. Long-term anhydrobiotic survival in semi-terrestrial micrometazoans. *J Zool Lond.* 257: 181–187.
- 7) Hashimoto, T., Horikawa, D.D., Saito, Y., Kuwahara, H., Kozuka-Hata, H., Shin-I, T., Minakuchi, Y., Ohishi, K., Motoyama, A., Aizu, T., Enomoto, A., Kondo, K., Tanaka, S., Hara, Y., Koshikawa, S., Sagara, H., Miura, T., Yokobori, S., Miyagawa, K., Suzuki, Y., Kubo, T., Oyama, M., Kohara, Y., Fujiyama, A., Arakawa, K., Katayama, T., Toyoda, A., and Kunieda, T. 2016. Extremotolerant tardigrade genome and improved radiotolerance of human cultured cells by tardigrade-unique protein. *Nature Comm.* 7:12808.
- 8) Horikawa, D.D., Cumbers, J., Sakakibara, I., Rogoff, D., Leuko, S., Harnoto, R., Arakawa, K., Katayama, T., Kunieda, T., Toyoda, A.,

- Fujiyama, A., and Rothschild, L.J. 2013. Analysis of DNA repair and protection in the tardigrade *Ramazzottius varieornatus* and *Hypsibius dujardini* after exposure to UVC radiation. *PLoS ONE* 8: e64793.
- 9) Jönsson, K.I., Rabbow, E., Schill, R.O., Harms-Ringdahl, M., and Rettberg, P. 2008. Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. *Curr Biol.* 18: R729–R731
- 10) Kagoshima, H., Imura, S., and Suzuki, A.C. 2013. Molecular and morphological analysis of an Antarctic tardigrade, *Acutuncus antarcticus*. *J Limnol.* 72: 15–23.
- 11) Kagoshima, H., Kito, K., Aizu, T., Shin-i, T., Kanda, H., Kobayashi, S., Toyoda, A., Fujiyama, A., Kohara, Y., Convey P., and Niki, H. 2012. Multi-decadal survival of an Antarctic nematode, *Plectus murrayi*, in a -20°C stored moss sample. *CryoLetters.* 33: 280–288.
- 12) Ramløv, H., and Westh, P. 2001. Cryptobiosis in the eutardigrade *Adorybiotus (Richtersius)* coronifer: tolerance to alcohols, temperature and de novo protein synthesis. *Zool. Anz.* 240: 517–523.
- 13) Richters, F. 1904. Vorläufiger Bericht über die antarktische moosfauna. *Verh Deut Z.* 14:236–239.
- 14) Tsujimoto, M., Suzuki, A.C., and Imura, S. 2015. Life history of the Antarctic tardigrade, *Acutuncus antarcticus*, under a constant laboratory environment. *Polar Biol.* 38: 1575–1581.
- 15) Tsujimoto, M., Imura, S., and Kanda, H. 2016. Recovery and reproduction of an Antarctic tardigrade retrieved from a moss sample frozen for over 30 years. *Cryobiology.* 72: 78–81.
- 16) Tsujimoto, M., Komori, O., and Imura, S. 2016. Effect of lifespan and age on reproductive performance of the tardigrade *Acutuncus antarcticus*: minimal reproductive senescence. *Hydrobiologia.* 772: 93–102.
- 17) Tsujimoto, M., Kagoshima, H., Kanda, H., Watanabe, K., and Imura, S. 2020. Reproductive performance of the Antarctic tardigrades, *Acutuncus antarcticus* (Eutardigrada: Hypsibiidae), revived after being frozen for over 30 years and of their offspring. *Zool J Linnean Soc.* 188: 839–847.
- 18) Velasco-Castrillón, A., Gibson, J.A.E., and Stevens, M.I. 2014. A review of current Antarctic limno-terrestrial microfauna. *Polar Biol.* 37: 1517–1531.



MINI REVIEW

Takahashi A

Survival strategies of Adélie penguins in Antarctica: recent findings using bio-logging

南極におけるアデリーペンギンの生存戦略：バイオロギングによる最近の知見から

国立極地研究所 / 総合研究大学院大学極域科学専攻
高橋 晃周

National Institute of Polar Research, Japan / Department of Polar Science, The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI)

Corresponding author: Akinori Takahashi, atak@nipr.ac.jp
Phone: +81-42-512-0741, FAX +81-42-528-3492

Received: Jan. 5, 2021/ Revised: Jan. 25, 2021/ Revised: Feb. 2, 2021/ Accepted: Feb. 3, 2021

Abstract Antarctica is often considered an extreme environment for living organisms due to cold, windy, dry, and seasonally-fluctuating light conditions. The Southern Ocean surrounds the Antarctic continent, where water temperatures remain low ($-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$) even in summer, and sea-ice extends over the large areas in winter. Despite these 'harsh' conditions, marine ecosystems flourish in the Southern Ocean with the rich fauna of cold-adapted species. Adélie penguins distribute across the Antarctic coastal regions and are considered bio-indicators of 'ecosystem health'. Their populations have decreased around the Antarctic Peninsula region but contrastingly increased in the East Antarctic region, and the effects of climate change have been debated. To fully address how changing climate affects Adélie penguins, we need better to understand their survival strategies in the Southern Ocean. Here I review the recent findings on how Adélie penguins utilize the Antarctic environment in summer and winter, based on research using animal-attached bio-logging instruments. These findings include 1) strong effects of inter-annual changes in summer sea-ice conditions on penguin foraging and breeding performance in summer, and 2) the effects of seasonally-fluctuating physical environments on penguin

migration in winter. These findings highlight how Adélie penguins adapt to annually- and seasonally- fluctuating Antarctic environments.

Key words: foraging behaviour, marine ecosystem, seabirds, sea-ice, Southern Ocean

南極の自然環境とペンギン

低温・強風・乾燥・極端な光環境にさらされる南極大陸は動植物相に乏しく、生物にとっての極限環境とみなされている。また、南極大陸をとりまく南極海は、その大部分の海域が夏であっても $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 程度と低水温であり、冬には南極大陸とほぼ同じ面積の海の表面が氷で覆われるという寒冷な環境である。しかしながら、南極海にはこうした寒冷環境に適応した多様な海洋生物が生息しており、独特な海洋生態系が形成されている。

南極の寒冷環境に適応した動物の代表例として挙げられるのがペンギンである。南極には4種のペンギンが繁殖しているが、南緯65度より高緯度の大陸沿岸部に生息するのはアデリーペンギンとコウテイペンギンの2種のみとなっている。このうち、南極の夏に繁殖を行うアデリーペンギンは、日本の昭和基地を含め、各国の南極観測基地で個体数が継続的

に調査され、南極の海洋生態系の変化をモニターするための生物指標種として、その個体数動向が注目されてきた。その結果によると、アデリーペンギンは南極半島域などでは個体数が調査開始から 80 % 以上も減少しているものの、昭和基地を含む東南極域では逆に個体数が 100 % 近く増加しているといった、地域ごとの違いが大きいことが明らかになってきている^{3), 4)}。このような個体数変化の地域ごとの違いは、どのような環境変化と結びついているのだろうか？

ペンギンの個体数変化の傾向と、南極域の環境変化との関係を明らかにするには、ペンギンが海の環境をどのように利用しているのか、彼らの「生存戦略」を知る必要がある。しかし、ペンギンが一旦繁殖地を離れてしまうと、その行動や生態を追跡して観察することは難しい。そこで国立極地研究所（極地研）では、動物に小型記録計を装着し、行動や生態を記録するバイオリギング手法を長年に渡り開発してきた³⁾。本論文では、バイオリギング手法について簡単に解説するとともに、この手法で最近明らかになったアデリーペンギンの環境応答や生存戦略の知見について紹介する。

バイオリギング

バイオリギングはバイオ（生物）とロギング（記録する）という言葉を組み合わせて作られた学術用語で、直接観察することが難しい動物に対して、記録計を体に直接取り付け行動や生態に関するデータを取得する手法のことを言う。1970年代に南極のペンギンやアザラシの潜水行動を研究するための手法として、極地研や米国のスクリプス海洋研究所の研究者によって記録計の開発が開始された。開発当初は、記録計中のアルミの記録紙に圧力センサーの出力値が針で刻みつけられるというアナログ式のものだったが、現在ではデジタル化の恩恵を受けてセンサーの出力値が記録計中のメモリにデジタルデータとして直接記録されるようになってきている。また最初には圧力センサーによって潜水深度の計測ができたけだったが、現在では多様なセンサーによって、様々な生理・行動・生態パラメーターの記録が可能となっている⁵⁾（表1）。また記録計の大きさも最初は数 kg 程度の大きさであったものが、現在では 10 g 以下程度にまで小型化され、ペンギン・アザラシのような大型の潜水動物に限らず小型の海鳥類やウミガメ、魚類などの海洋動物全般の研究に使われるようになった。さらに、直接観察することが難しい陸上の動物の研究にも使われるようになってきている。

センサ	得られる行動等の記録
圧力	潜水深度・時間
GPS	移動経路、行動圏
加速度	動作、姿勢
プロペラ	遊泳速度、飛翔速度
地磁気	動物の進行方向
画像・映像	生息環境、餌、動き
光量	照度、日照時間
音	鳴き声、環境音
温度	水温、気温、体温
電位	心拍数、筋活動量

表1. 現在バイオリギングで使われているセンサーの種類とそこから得られる行動等の記録事項の例

バイオリギングの中でも近年もっとも進展が目覚ましいのが、画像・映像による行動・生態の観察である。これまで観察することが難しかった水中での行動や周辺環境を、動物に装着したカメラによって「動物目線」で直接観察することができるようになってきた。極地研の研究チームでは、2010年にビデオカメラの小型化に成功し、世界で初めて野生のペンギンから映像データを取得することに成功した⁹⁾。南極の昭和基地近くで繁殖するアデリーペンギンの背中に小型のビデオ記録計を取り付けて数日後に回収し、ペンギンが海にいる間の映像を取得したところ、ペンギンが海氷下でオキアミを一匹ずつついで次々と食べる様子や魚を追跡して丸呑みする様子などが記録されていた（図1）。また南極のフランス基地では、アデリーペンギンがクラゲを頻りに捕食する様子も初めて明らかになり、これまでクラゲは水分ばかりが多く、海洋動物のエサとして適さないという従来の考え方を覆す結果として関連分野の研究者たちを驚かせた⁷⁾。ビデオからわかるのはどのような種類のエサを食べているかだけではない。例えば、平均して 100 秒間の潜水中に 5.4 匹のオキアミを取っていた、といった捕食の速度についての詳しい情報が得られる。このような捕食行動の調査を継続的に行うことで、環境の変化がペンギンに与える影響を詳細に把握することが可能になる。

夏期間の海氷とペンギンの捕食行動の関係

昭和基地が位置する東南極域のリュツォ・ホルム



図1. ビデオカメラを装着したアデリーペンギン（左）. 他個体と泳ぐペンギン(中上)と、ペンギンがオキアミ（中上）や魚（中下・右上）、クラゲ（右下）を捕食する瞬間のビデオカメラ映像の例.

湾は、夏の間でも 1-5 m 程度の分厚い海氷（定着氷）に覆われている。この地域で繁殖するアデリーペンギンたちは岸沿いや氷山の周りなどに開いた小さな水開きから海氷の下に潜水してエサをとっている。ところが、10 年に 1 度ほどの頻度で、この湾の定着氷が割れて沖合に流出し、開水面が広がることもある。最近では 2017 年 1 月のペンギンの繁殖期間中にこうした大規模な定着氷の流出がみられた¹⁾。極地研の研究チームでは、昭和基地周辺の繁殖地で 2017 年を含む夏の 6 シーズンに渡って調査を行っており、定着氷が湾内に残っていた年と大規模に流出した年とでペンギンの捕食行動を比較した。

その結果、アデリーペンギンの捕食行動は夏期間の海氷状況によって大きな影響を受けていることが明らかになった^{2), 8)}。まず、ペンギンのエサの中にオキアミが占める割合は定着氷がない年(94 %)には定着氷がある年(37-91 %)に比べて高かった。また、ペンギンがオキアミを捕食する速度は定着氷のない年(5.4 匹 / 100 秒)で、定着氷のある年(3.6 - 5.1 匹 / 100 秒)よりも高かった。定着氷がなくなることで、海中へより多くの光が届いて植物プランクトンの増殖が進み、この海域でのオキアミの現存量を増加させた結果、ペンギンの捕食速度が高まったと考えられる。また GPS 記録計で調べたペンギンの移動経路のデータを見ると、定着氷がある年には繁殖地から 2.1-2.4 km の範囲で氷上を歩いて移動していたのに対し、定着氷がない年には水中を泳いで平均 7 km まで、広い範囲を移動していたことがわかった。一方、定着氷がない年には移動範囲が拡大したにも関わらず、時間的にもエネルギー的にも効率のよい「泳ぐ」

という移動手段をとったことで、海でのエサ取りに要する時間(採餌トリップ時間)は平均 11.8 時間と、定着氷のある年(15.0-19.7 時間)に比べて大きく短縮された。こうした捕食行動の変化の結果、定着氷のない年にはペンギンの繁殖成績は大幅に改善された。繁殖地におけるペンギンのヒナの体重の増加速度は定着氷のない年(102 g / 日)に、定着氷がある年(67 - 76 g / 日)よりも高く、またヒナの巣立ち率も 1.1 - 2.5 倍程度高かった。

以上の結果から、ペンギンの捕食行動や繁殖成績は海氷状況の年々変動によって大きな影響を受けており、東南極域では定着氷がない状況の方が捕食や繁殖に好適であることが明らかになった。東南極域での個体数の増加は、定着氷の状況の長期的な変化と関係している可能性がある。一方、アデリーペンギンの個体数が顕著に減少している南極半島域では、まだ詳細な捕食行動の調査が行われていない。今後ビデオなどのバイオリギングによる詳細な調査がおこなわれることで、環境変化とペンギンの個体数減少との関連性が明らかになることが期待される。

南極の冬期間のペンギンの移動と潜水行動

南極の夏(12月~2月)を過ぎると、アデリーペンギンは繁殖地周辺には姿を見せなくなる。大陸周辺の海は凍りはじめ、冬には大陸沿岸から北へ 1000 km 以上もの範囲にわたって氷が海面を覆う。真冬(6月~7月)には、昭和基地のような高緯度域では日長時間が極端に短くなり、太陽が姿を現さない極夜を迎える。海氷のすき間から潜水し、視覚に頼ってエサを探すペンギンにとっては厳しい季節である。

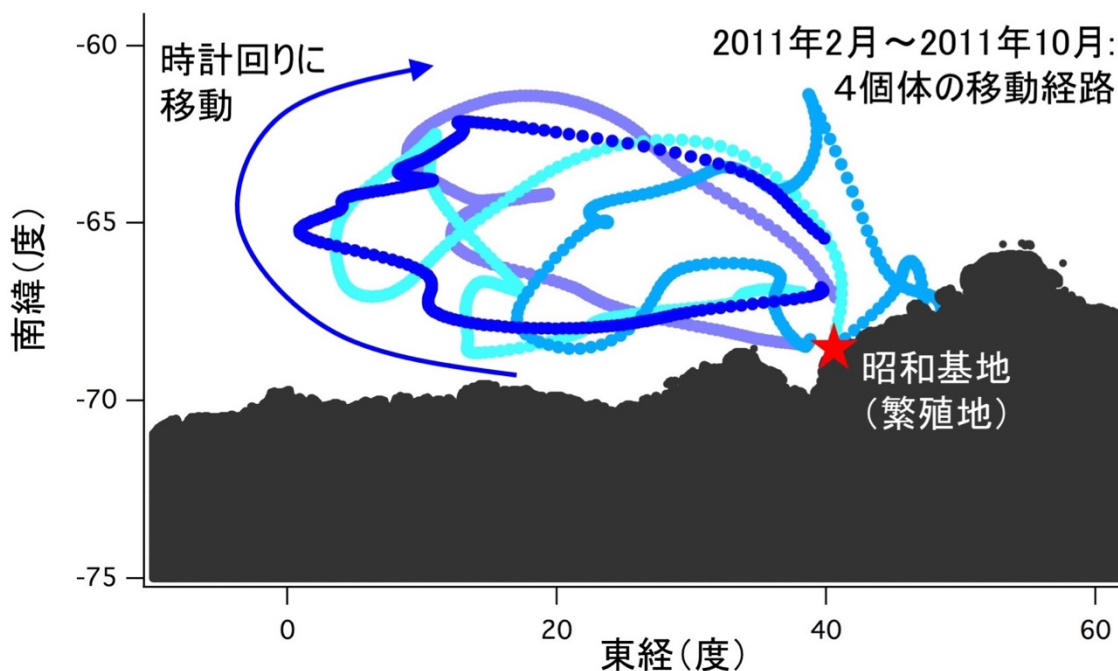


図2 アデリーペンギンの冬の間移動経路の例.

このような南極の冬をアデリーペンギンはどのように乗り切っているのだろうか？

バイオリギングを使った調査では、記録計を装着したペンギンを再度捕獲して、記録計に蓄積されたデータを回収する必要がある。ところが、ペンギンは繁殖後、約8ヶ月半の間陸地に戻らないため、この間の記録計の回収が不可能である。またペンギンは繁殖終了の約1ヶ月後に、全身の羽毛が新しく生え替わり古い羽毛がすべて抜け落ちてしまうため、記録計を背中に取り付けてもすべて羽毛と一緒に落ちてしまうことになる。

そこで、極地研の研究チームでは、小型の深度・照度・温度記録計 (重量 3.6 g) を足環でペンギンの足に取り付け、1年後の夏に回収することで、一年間の移動と潜水行動を調べる手法を開発した⁶⁾。その結果、2月にヒナが巣立ったあと、ペンギンの親鳥は繁殖地から約1500 kmも離れた海域まで移動していることがわかった。昭和基地周辺を離れると、まず5月ごろまで大陸沿岸にそって西に向かい、その後は北へ移動、8月～9月ごろからは東南の方角に向かって昭和基地へ戻るといった時計回りの移動経路を取っていた (図2)。これは大陸の沿岸近くでは西向きに、沖合では東向きに流れる海流・海氷の動きと一致していた。また深度の記録によると、冬の間は日が出ているわずかな時間を使って潜水し、夜は海氷上で休んでいた。外気温は時には -20°C を記録し、ペンギンが厳しい南極の冬の低温にさらされて

いることを示していた。一方、段々と日が長くなる9月～10月ころには徐々に潜水時間を増やし、次の繁殖開始に備えて活発にエサを取っていることがうかがえた。

これらの結果から、昭和基地近くのアデリーペンギンは、繁殖後は南極海を大きく北西方向へ移動し、真冬でも数時間の日長時間 (=潜水時間) を確保していることがわかった。また海流や海氷の動きのパターンを使って「省エネ」で長距離を移動していることが示唆された。アデリーペンギンは、南極の環境の大きな季節変化に対応して移動し、潜水行動を変化させることで厳しい冬を乗り切る生存戦略を身につけてきたと考えられる。今後、バイオリギング記録計のさらなる小型化によって、冬期間のペンギンの行動・生態の解明が進むことが期待される。

謝辞

極限環境生物学会シンポジウムでの講演ならびに本論文執筆の機会をいただいた郷田秀一郎博士、黒沢則夫博士にお礼申し上げます。本論文でレビューした昭和基地でのアデリーペンギンの研究は、第52-54次および第58-60次日本南極地域観測隊の観測活動の一環として、渡辺佑基、國分互彦、塩見こずえ、伊藤元裕、永井久美、三田村啓理、野田琢嗣、伊藤健太郎、島袋羽衣、渡邊日向、高木淳一、Jean-Baptiste Thiebot 各氏との共同研究として実施されました。

引用文献

- 1) Aoki, S. 2017. Breakup of land-fast sea ice in Lützow-Holm Bay, East Antarctica, and its teleconnection to tropical Pacific sea surface temperatures. *Geophys. Res. Lett.* 44: 3219-3227.
- 2) Ito, K., Watanabe, Y.Y., Kokubun, N., and Takahashi, A. 2020. Inter-colony foraging area segregation quantified in small colonies of Adélie Penguins. *Ibis*, <https://doi.org/10.1111/ibi.12837>
- 3) 内藤靖彦, 佐藤克文, 高橋晃周, 渡辺佑基. 2012. バイオロギング-「ペンギン目線」の動物行動学. 成山堂書店
- 4) Southwell, C., Emmerson, L., McKinlay, J., Newbery, K., Takahashi, A., Kato, A., Barbraud, C., Delord, K., and Weimerskirch, H. 2015. Spatially extensive standardized surveys reveal widespread, multi-decadal increase in East Antarctic Adélie penguin populations. *PLoS ONE* 10: e0139877.
- 5) 高橋晃周, 依田憲. 2010. 総説: バイオロギングによる鳥類研究. *日本鳥学会誌* 59: 3-19.
- 6) Takahashi, A., Ito, M., Nagai, K., Thiebot, J. B., Mitamura, H., Noda, T., Trathan, P.N., Tamura, T., and Watanabe, Y. Y. 2018. Migratory movements and winter diving activity of Adélie penguins in East Antarctica. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 589: 227-239.
- 7) Thiebot, J.B., Ito, K., Raclot, T., Poupart, T., Kato, A., Ropert-Coudert, Y., and Takahashi, A. 2016. On the significance of Antarctic jellyfish as food for Adélie penguins, as revealed by video-loggers. *Mar. Biol.* 163: 108.
- 8) Watanabe, Y.Y., Ito, K., Kokubun, N., and Takahashi, A. 2020. Foraging behaviour links sea-ice to breeding success in Antarctic penguins. *Science Adv.* 6: eaba4828.
- 9) Watanabe, Y.Y., and Takahashi, A. 2013. Linking animal-borne video to accelerometers reveal prey capture variability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 2199-2204.



Nakai R

Identifying uncultivated microorganisms in polar environments

極地に生きる未知微生物は何者か？

産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門
中井 亮佑

Bioproduction Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 2-17-2-1
Tsukisamu-higashi, Toyohira-ku, Sapporo 062-8517, Japan

Corresponding author: Ryosuke Nakai, nakai-ryosuke@aist.go.jp
Phone: +81-11-857-8408

Received: Jan. 5, 2021/ Revised: Feb. 25, 2021/ Revised: Mar. 13, 2021/ Accepted: Mar. 13, 2021

Abstract

Polar regions are often characterized as the coldest, driest, and/or windiest habitats for life on Earth. Even under such extreme conditions, however, microorganisms exhibit remarkable phylogenetic and functional diversity. Our group has studied the microbiomes of Antarctic lake environments. Algae and cyanobacteria often develop luxuriant multi-layered mat consortia in lake bottoms. In association with such mats, aquatic mosses sometimes form unique tower-like structures called “moss pillars” in the freshwater lakes located near Syowa Station, East Antarctica. Moss pillars harbor a high diversity of microorganisms, including both bacteria and eukaryotes, but not archaea. Unexpectedly diverse eukaryotic phylotypes affiliated with algae, ciliates, fungi, nematodes, rotifers, and tardigrades, as well as unclassified phylotypes, have been detected in these pillars. This mini review provides an overview of Antarctic terrestrial ecosystems. Additionally, it presents a brief introduction to an emerging novel cyanobacterial species related to the primitive cyanobacterium *Gloeobacter*, an unexpected freshwater lineage of Labyrinthulomycetes (fungus-like

protists), and uncultivated ultra-small bacteria. Exploration and mining of polar microorganisms would provide great insights into the diversity of life on this planet.

Keywords: Antarctic lakes, microbiome, uncultivated microorganisms, bacteria, cyanobacteria, protists, phylogenetic diversity

はじめに

気候変動の影響が強く現れる南極や北極の極地は、地球環境を科学する最前線のフィールドである。極地に生きる生物の多様性は環境変化のセンチネル（見張り）であり、特に目に見えない小さな微生物（バクテリアやアーキア、真核微生物）は先鋭的な指標といえる。また一方で、極地のような極限環境、たとえば低温や貧栄養の条件下で微生物がどのように生きているのか？を探求することは、地球生物が秘める能力の可能性ないし限界を知るうえで重要であろう。筆者らは、第36次日本南極地域観測隊によって1996年に発見されたコケ植物と微生物の共存・共生系「コケ坊主（moss pillar）」のマイクロバイオーム研究を通して、南極微生物の実体の一端を

明らかにしてきた。また、第56次南極観測隊に同行し、新規微生物の探索と収集に携わった。本稿では南極の陸上生態系について概観しながら、これからの極地微生物探索で注力すべき系統群について私見を述べる。

南極の露岩域

極寒と極乾で特徴づけられる南極大陸ではあるが、大陸の縁辺部には氷雪に覆われていない露岩域ろがんいきとよばれる岩石地帯がある(図1A)。露岩域は南極大陸の僅か0.18%である²⁾。しかし、南極大陸が約1388万km²であることから、その広さは約2.5万km²になる(これは東京都11個分超の規模である)。特に日本の昭和基地の南には、ラングホブデ、スカルブスネス、スカーレンなどと呼ばれる露岩域があり、そこに極めてユニークな生態系が存在する。赤茶けた岩肌が広がる露岩域では、岩石に付着ないし内生する藻類や地衣類を容易に観察できる(図1Bと1C)。さらにこの一帯は岩石だけではなく、大小さまざまな湖がある。湖の詳しい成因は割愛するが、雪や氷の融け水が窪地に流れ込んでできる淡水湖の他に、海水が取り込まれてできる塩湖などがある。南極に

あって液体状の水がある湖は生物のオアシスであり、その湖岸では藻類の集合塊を見ることができる(図1D)。昭和基地周辺の50を超える湖の名前や場所・湖沼学的特性が整理されている¹⁰⁾。またいくつかの湖や湖岸の試料でマイクロバイームが調べられている^{4,6,11)}。

南極湖底のコケ坊主

日本の昭和基地周辺の淡水湖の湖底では、コケ植物が他の微生物とともに塔のような形をつくるユニークな構造体が見られ、コケ坊主(moss pillar)と呼ばれる(図2)。コケ坊主が最初に論文で報告されたのは1999年であり⁷⁾、その後、コケ坊主の成長速度、炭素・窒素含有量、生息場である湖の環境特性なども調べられている(詳細は他稿を参照されたい²⁰⁾)。コケ坊主はナシゴケ属(*Leptobryum*)のコケが主な構成種であり、後に*Leptobryum wilsonii*と同定された⁹⁾。興味深いことに、この種は昭和基地周辺からは報告がなく、分子系統学的解析から南米のチリ産のものに近縁であることから、南極外からコケの胞子が飛来し定着したと考えられる。コケ坊主のような水生コケ植物の大群落は、世界中の他の

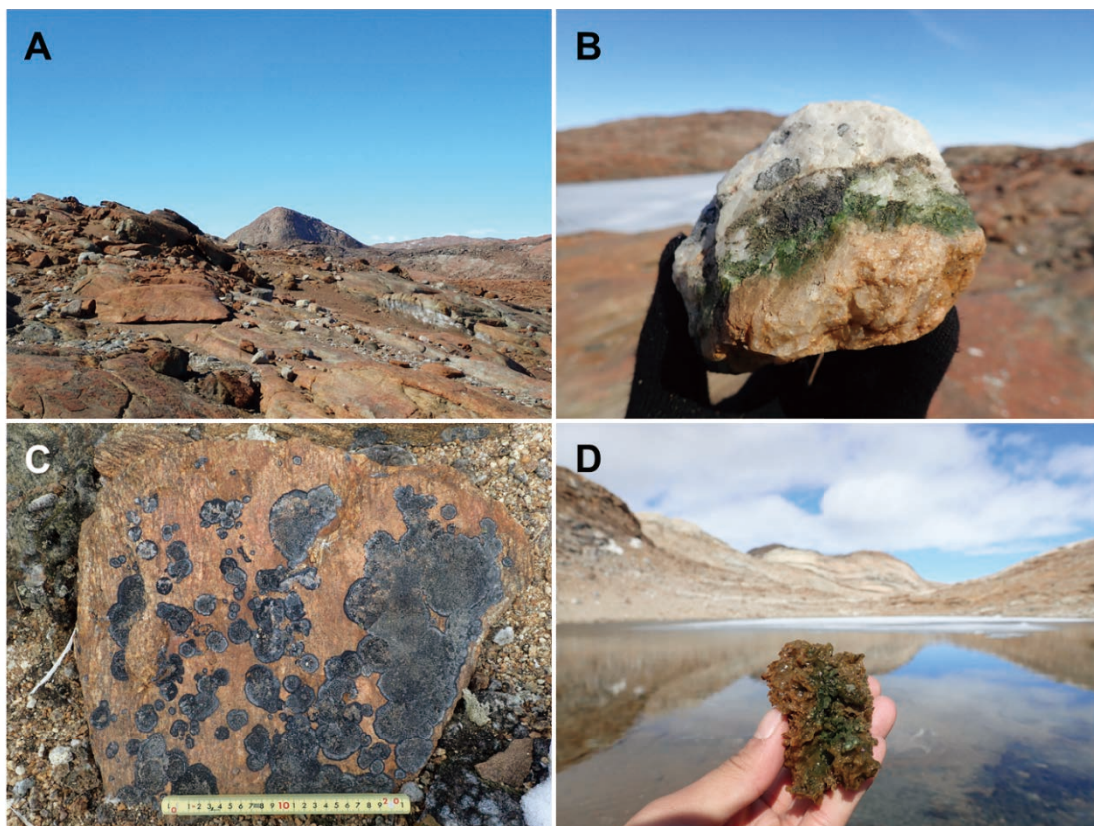


Figure 1 (A) Typical landscape of the ice-free area near Syowa Station, East Antarctica; (B and C) Algal and lichen communities on Antarctic rocks; (D) Algal assemblages found on the shore of an Antarctic lake. [Photos by R. Nakai] 図1 (A) 東南極に位置する昭和基地周辺の露岩域、(BとC) 南極露岩域の岩石に付着する藻類や地衣類、(D) 南極露岩域の湖岸で見られる藻類塊。[筆者原図]

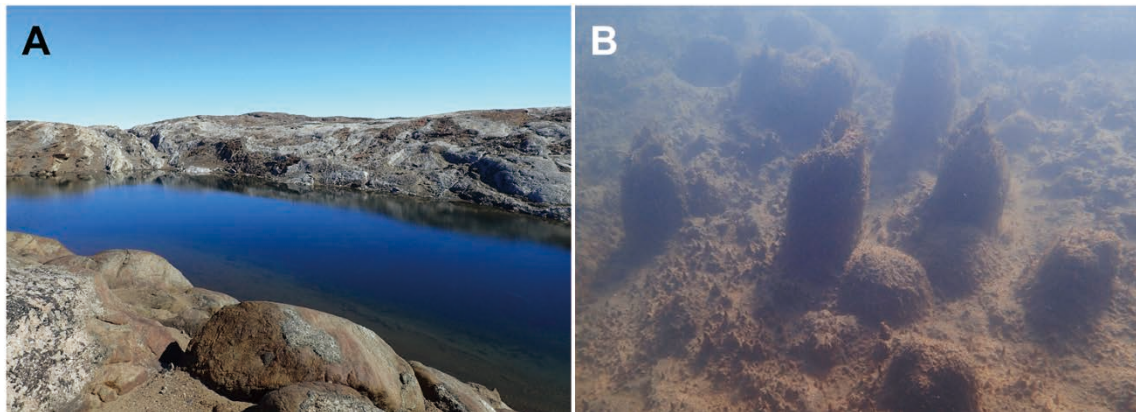


Figure 2 (A) Lake Hotoke-ike, Skarvsnes ice-free area, East Antarctica; (B) Benthic moss pillars in Lake Hotoke-ike. [Photos by R. Nakai] 図 2 (A) 東南極に位置するスカルプスネス露岩域の仏池、(B) 仏池の湖底に見られるコケ坊主。大きいものでは高さ 80 cm になる。[筆者原図]

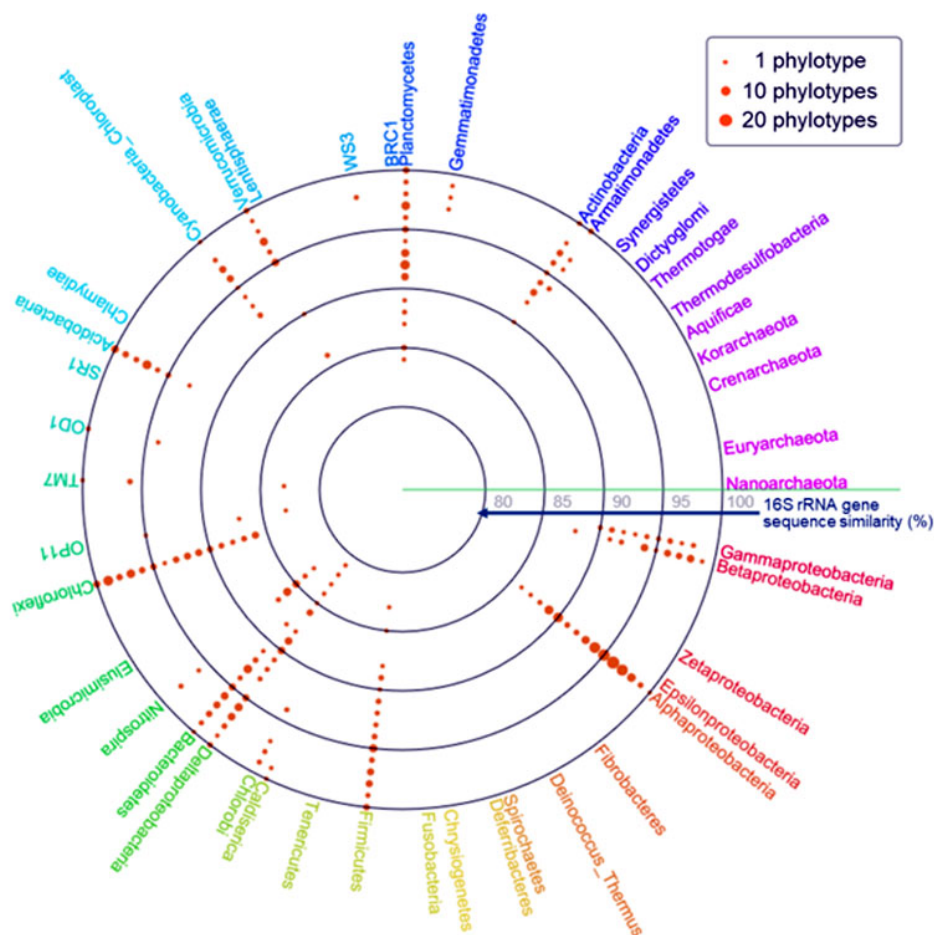


Figure 3 Phylogenetic diversity and novelty (i.e., 16S rRNA gene sequence similarity against the reference database) of bacteria detected in Antarctic moss pillars. Taxonomic affiliations of bacterial 564 phylotypes were analyzed and visualized using VITCOMIC2¹⁵. Sequence data of the phylotypes were from our previous study¹⁷. Note that no archaea were detected. 図 3 南極コケ坊主から検出されたバクテリアの系統型 (phylotype) の帰属分類群とその 16S rRNA 遺伝子の配列類似性。VITCOMIC2¹⁵ を用いて、全 564 phylotypes の系統組成を門あるいは綱レベルで推定し図示した。各系統の色分けや記載位置は VITCOMIC2 に従っている。内側の円に近いほど、配列類似性が 100%から 80%へと低く、より新規性が高い。16S rRNA 遺伝子の塩基配列データは先行研究で得たものを用いた¹⁷。なお、アーキアは検出されなかったため、phylotype 数の大小を示す橙色丸印がプロットされていない。

露岩域のみに見られるユニークなものである。コケ坊主の発見以降、基地周辺の湖が広く調査され、*Leptobryum* のコケが 24 の湖で見つかったが、このうち、コケ坊主を形成していたのは 8 の湖だけであった⁸⁾。その形成と環境的要因との関連性については今後の研究が待たれる。ちなみに、コケ類は含有しないが、ストロマトライトに似た構造物が南極のドライバレー地域の露岩帯の湖底から報告されている²³⁾。この構造物は *Phormidium* 属のラン藻 (シアノバクテリア) を中心としたもので、「生きているストロマトライト (living stromatolites)」と呼ばれる。

筆者らは、脂肪酸組成や 16S/18S rRNA 遺伝子・機能遺伝子群の解析を行い、コケ坊主に共在・共生するマイクロバイームを精査してきた¹⁷⁻¹⁹⁾。バクテリアを標的した解析で検出した系統群を図 3 に記した。この 564 の系統型 (phylotype) の中には、配列類似性 95% を下回るものが多数含まれる。特に、*Proteobacteria* 門、*Bacteroidetes* 門、*Chloroflexi* 門、*Firmicutes* 門、および *Planctomycetes* 門において多様な phyloypes が存在する。コケ坊主内で最優占した系統型 MPB1-33 (*Alphaproteobacteria* 綱の細菌) は、執筆現在、最近縁な基準菌株が *Phenylobacterium koreense* Slu-01^T の類似性 88.5% と低く、近縁な細菌が存在しない。なお、現時点でアーキアを PCR 検出できていないが (プライマーは 21F-1492R を使用)、これはアーキアの存在頻度が極めて少ないのか、DNA 抽出方法あるいは PCR プライマーのバイアスによるものか、よく分かっていない。また、真核微生物では、主要構成種たるコケ類だけでなく、菌類や藻類、ワムシやクマムシ、およびこれらに加えて分類できない未知真核微生物など、さまざまな分類群を検出した。バクテリアと同様に、真核微生物の phyloypes もまた類似性 95% 未満のものが全体の約 6 割を占めており、このような未知微生物の生理・生態機能、そして他の微生物との相互作用は、生態系内のネットワーク構造が単純な極地生態系において重要である。次項では、この中から新奇なシアノバクテリアとラビリンチュラ類、および極小の未培養細菌群 (candidate phyla radiation、いわゆる CPR 細菌) について取り上げる。

極地に生きる未知微生物

南極湖底のコケ坊主から検出された phylotype MPB2-6 は、シアノバクテリアに属するものの、既知のどの配列とも類似しておらず、その当時は、環境由来の未培養細菌の配列を含めても近縁なものなかった。しかしその後、近縁な配列がカナダ北

部の北極圏の土壌から発見され、本系統の両極域での分布が示唆された¹⁴⁾。興味深いことに、この新奇系統は、チラコイド膜がなく、シアノバクテリアの中で最も早く分岐したと考えられる *Gloeobacter* 属と系統樹上で近い位置に存在した。さらに、アンデス山脈やアルプス山脈などの環境試料からも本系統が検出されたことから、低温環境に適応するものと思われる。最近になって、南極のバンダ湖 (Lake Vanda) 由来のメタゲノム情報から本系統のゲノムが再構築され、極地や高山に分布するこれらに “*Candidatus Aurora*” と暫定的な候補の属名が与えられた⁵⁾。この候補名は「夜明けの女神アウロラ」に因んだものである。酸素発生型光合成生物のシアノバクテリアが地球環境の変遷において重要な役割を担ってきたことを考えると、この微生物の分離とその特性解析が待たれる。

また第二に、ドコサヘキサエン酸 (DHA) など高度不飽和脂肪酸を溜め込むラビリンチュラ類が挙げられる。この真核微生物の一群は、海洋環境から発見されることがほとんどで、淡水種として報告されているものは極めて少ない。しかしながら、ラビリンチュラ類の未知種が、コケ坊主が見られる淡水湖から一定の頻度で検出されるとともに、その近縁な配列には極限環境由来のものが含まれる。高度不飽和脂肪酸と低温耐性の関連性が細菌においてしばしば論じられていることから²²⁾、油糧微生物たるラビリンチュラ類が南極湖沼に分布するのも不思議ではないかもしれない。筆者らは、油滴を溜め込むラビリンチュラ類に似た南極微生物を顕微鏡下で捉えたものの²⁰⁾、残念ながらその単離に至っていない。なお、ラビリンチュラ類の既知種は、脂肪酸を蓄積する他に、難分解性の有機物を分解する酵素 (セルラーゼなど) を分泌する能力を持ち、その物質循環機能も注目されている²¹⁾。

第三に、門 (phylum) のレベルで系統的に高度に新規な一群の CPR 細菌¹⁾ に言及しておきたい。コケ坊主からはこの CPR 細菌に含まれる “*Candidatus Parcubacteria*” (OD1) や “*Candidatus Microgenomates*” (OP11) などが検出された (図 3)。OD1 と OP11 は、南極のベストホールド・ヒルズ地域やドライバレー地域の湖からも報告されている¹²⁻¹³⁾。CPR 細菌の少なくとも一部は、孔径約 0.2 マイクロメートルの精密ろ過膜を通過するほどに細胞サイズが小さいことと、極端なゲノム縮小に伴って核酸やアミノ酸・脂肪酸の既知の合成能を欠くことなどが解明されてきたものの、その全容は謎に包まれている^{3,16)}。さらにこの一群は、最初に報告された地下環境だけでは

なく、さまざまな環境に分布している。南極の湖の他に、亜北極の湖からも検出されており、その炭素やメタンの循環への寄与が指摘されている²⁶⁾。極限的に小さな極地微生物の生理・生態機能もこれから追求すべきテーマの一つであると筆者は思う。

おわりにかえて—今後の極地微生物探索

前項で筆者が注目する微生物群を簡潔に紹介したが、極地微生物探索を進めるうえで、微生物の生態や生息環境を知り、分離・培養を行うにあたっては、現場環境を可能な限り模擬することが重要であることを最後に記しておきたい(そんなことは当たり前と言われるかもしれないが)。最近になって、東邦大を中心とした研究チームが南極湖底の堆積物から *Legionella* sp. TUM19329 を分離した²⁴⁾。本菌株は *Legionella* 属の中で初めての低温耐性株である。この単離の鍵は、最初の集積培養を低温で実施したことにあると筆者は考えている。さらに、南極陸上の貧栄養な環境を模して培地組成を考案して、具体的には、窒素源をあらかじめ添加しない条件を設けて微生物の分離試験を試み、未培養候補門 FBP を代表する初めての基準菌株 *Abditobacterium utsteinense* LMG 29911^T の分離に至った報告もある²⁵⁾。新しい極地微生物から得られる生理学的・遺伝学的性質もまた新たな培養条件のデザインに有効である。培養法に依存しない解析、いわゆるオミクス解析から推定される代謝特性を踏まえて培養戦略を立てていくことが今後の極地微生物ハンティングの一つの姿であろう。

謝辞

この総説は、極限環境生物学会 第 21 回シンポジウム「極地に生きる」での講演内容を中心としてまとめたものである。本シンポジウムでの講演、また本稿の執筆の機会を与えてくださった川本純博士(京都大)、郷田秀一郎博士(創価大)、およびシンポジウム運営委員の先生方に御礼を申し上げる。本稿で紹介した写真は、第 56 次日本南極地域観測隊に同行した際に筆者が撮影したものである。同観測隊の野木義史隊長(極地研)と三浦英樹副隊長(極地研)をはじめとする隊員およびその同行者の皆様、特に生物チームとして一緒に活動した鈴木忠博士(慶応大)と辻本恵博士(極地研、現 慶応大)に感謝の意を表す。

参考文献

1) Brown, C. T., Hug, L. A., Thomas, B. C., Sharon, I., Castelle, C. J., Singh, A., Wilkins M.

J., Wrighton, K. C., Williams, K. H., and Banfield, J. F. 2015. Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria. *Nature* 523: 208~211.

2) Burton-Johnson, A., Black, M., Fretwell, P., and Kaluza-Gilbert, J. 2016. An automated methodology for differentiating rock from snow, clouds and sea in Antarctica from Landsat 8 imagery: a new rock outcrop map and area estimation for the entire Antarctic continent. *The Cryosphere* 10: 1665~1677.

3) Castelle, C. J., Brown, C. T., Anantharaman, K., Probst, A. J., Huang, R. H., and Banfield, J. F. 2018. Biosynthetic capacity, metabolic variety and unusual biology in the CPR and DPANN radiations. *Nat. Rev. Microbiol.* 16: 629~645.

4) Chaya, A., Kurosawa, N., Kawamata, A., Kosugi, M., and Imura, S. 2019. Community structures of bacteria, archaea, and eukaryotic microbes in the freshwater glacier lake Yukidori-Ike in Langhovde, East Antarctica. *Diversity* 11: 105.

5) Grettenberger, C. L., Sumner, D. Y., Wall, K., Brown, C. T., Eisen, J. A., Mackey, T. J., Hawe, I., Jospin, G., and Jungblut, A. D. 2020. A phylogenetically novel cyanobacterium most closely related to *Gloeobacter*. *ISME J.* 14: 2142~2152.

6) Hirose, Y., Shiozaki, T., Otani, M., Kudoh, S., Imura, S., Eki, T., and Harada, N. 2020. Investigating Algal Communities in Lacustrine and Hydro-Terrestrial Environments of East Antarctica Using Deep Amplicon Sequencing. *Microorganisms* 8: 497.

7) Imura, S., Bando, T., Saito, S., Seto, K., and Kanda, H. 1999. Benthic moss pillars in Antarctic lakes. *Polar Biol.* 22: 137~140.

8) Imura, S., Bando, T., Seto, K., Ohtani, S., Kudoh, S., and Kanda, H. 2003. Distribution of aquatic mosses in the Sôya Coast region, East

- Antarctica. *Polar Biosci.* 16: 1~10.
- 9) Kato, K., Arikawa, T., Imura, S., and Kanda, H. 2013. Molecular identification and phylogeny of an aquatic moss species in Antarctic lakes. *Polar Biol.* 36: 1557~1568.
- 10) Kudoh, S., and Tanabe, Y. 2014. Limnology and ecology of lakes along the Sôya Coast, East Antarctica. *Adv. Polar Sci.* 25: 75~91.
- 11) Kurosawa, N., Sato, S., Kawarabayasi, Y., Imura, S., and Naganuma, T. 2010. Archaeal and bacterial community structures in the anoxic sediment of Antarctic meromictic lake Nurume-Ike. *Polar Sci.* 4: 421~429.
- 12) Kwon, M., Kim, M., Takacs-Vesbach, C., Lee, J., Hong, S. G., Kim, S. J., Priscu, J. C., and Kim, O. S. (2017). Niche specialization of bacteria in permanently ice-covered lakes of the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Environ. Microbiol.* 19: 2258~2271.
- 13) Lauro, F. M., DeMaere, M. Z., Yau, S., Brown, M. V., Ng, C., Wilkins, D., Raftery, M. J., Gibson, J. A. E., Andrews-Pfannkoch, C., Lewis, M., Hoffman, J. M., Thomas, T., and Cavicchioli, R. 2011. An integrative study of a meromictic lake ecosystem in Antarctica. *ISME J.* 5: 879~895.
- 14) Lynch, M. D., Bartram, A. K., and Neufeld, J. D. 2012. Targeted recovery of novel phylogenetic diversity from next-generation sequence data. *ISME J.* 6: 2067~2077.
- 15) Mori, H., Maruyama, T., Yano, M., Yamada, T., and Kurokawa, K. 2018. VITCOMIC2: Visualization tool for the phylogenetic composition of microbial communities based on 16S rRNA gene amplicons and metagenomic shotgun sequencing. *BMC Syst. Biol.* 12: 47~58.
- 16) Nakai, R. 2020. Size matters: Ultra-small and filterable microorganisms in the environment. *Microbes Environ.* 35: ME20025.
- 17) Nakai, R., Abe, T., Baba, T., Imura, S., Kagoshima, H., Kanda, H., Kanekiyo, A., Kohara, Y., Koi, A., Nakamura, K., Narita, T., Niki, H., Yanagihara, K., and Naganuma, T. 2012. Microflorae of aquatic moss pillars in a freshwater lake, East Antarctica, based on fatty acid and 16S rRNA gene analyses. *Polar Biol.* 35: 425~433.
- 18) Nakai, R., Abe, T., Baba, T., Imura, S., Kagoshima, H., Kanda, H., Kohara, Y., Koi, A., Niki, H., Yanagihara, K., and Naganuma, T. 2012. Eukaryotic phylotypes in aquatic moss pillars inhabiting a freshwater lake in East Antarctica, based on 18S rRNA gene analysis. *Polar Biol.* 35: 1495~1504.
- 19) Nakai, R., Abe, T., Baba, T., Imura, S., Kagoshima, H., Kanda, H., Kohara, Y., Koi, A., Niki, H., Yanagihara, K., and Naganuma, T. 2012. Diversity of RuBisCO gene responsible for CO₂ fixation in an Antarctic moss pillar. *Polar Biol.* 35: 1641~1650.
- 20) Nakai, R., Imura, S., and Naganuma, T. 2019. Patterns of microorganisms inhabiting Antarctic freshwater lakes with special reference to aquatic moss pillars. In Castro-Sowinski S (ed) *The Ecological Role of Micro-organisms in the Antarctic Environment* pp.25~43, Springer.
- 21) Nakai, R., and Naganuma, T. 2015. Diversity and ecology of thraustochytrid protists in the marine environment. In Ohtsuka, S., Suzaki, T., Horiguchi, T., Suzuki, N., Not, F. (eds) *Marine Protists - Diversity and Dynamics* pp.331~346, Springer.
- 22) Nichols, D. S., Nichols, P. D., and McMeekin, T. A. 1993. Polyunsaturated fatty acids in Antarctic bacteria. *Antarctic Sci.* 5: 149~149.
- 23) Parker, B. C., Simmons Jr, G. M., Love, F. G., Wharton Jr, R. A., and Seaburg, K. G. 1981. Modern Stromatolites in Antarctic Dry Valley Lakes. *BioScience* 31: 656~661.

- 24) Shimada, S.*, Nakai, R.*, Aoki, K., Shimoeda, N., Ohno, G., Miyazaki, Y., Kudoh, S., Imura, S., Watanabe, K., Ishii, Y., and Tateda, K. (*equal contribution) 2020. Complete genome sequence of novel psychrotolerant *Legionella* strain TUM19329, isolated from Antarctic lake sediment. *Microbiol. Resour. Announc.* 9: e00253-20.
- 25) Tahon, G., Tytgat, B., Lebbe, L., Carlier, A., and Willems, A. 2018. *Abditibacterium utsteinense* sp. nov., the first cultivated member of candidate phylum FBP, isolated from ice-free Antarctic soil samples. *Syst. Appl. Microbiol.* 41: 279~290.
- 26) Vigneron, A., Cruaud, P., Langlois, V., Lovejoy, C., Culley, A. I., and Vincent, W. F. 2020. Ultra-small and abundant: Candidate phyla radiation bacteria are potential catalysts of carbon transformation in a thermokarst lake ecosystem. *Limnol. Oceanogr.* 5: 212~220..

MINI REVIEW

Shono N, Watanabe S, Okada K, Sakaguchi K, Omori Y,
Kikuchi R, Kasahara K and Fujita T

Bioproduction Management using convolutional data: can we launch AI that exceeds tacit-knowledge experts?

コンボリュショナルデータを活用したバイオ生産マネジメント
～熟練技術者の暗黙知を超えられる AI を作れるか～

^{a)} 株式会社ちとせ研究所. 〒216-0041 神奈川県川崎市宮前区野川本町 2-13-3
庄野暢晃^{a)}、渡部峻^{a)}、岡田和士^{a)}、坂口航平^{a)}、大森裕子^{a)}、菊地亮太^{a)}、笠原堅^{a)}、藤田朋宏^{a)}

^{a)} Chitose Laboratory Corp, 2-13-3 Nogawahoncho, Miyamae-ku, Kawasaki, Kanagawa 216-0041, Japan

Corresponding author: Ken Kasahara, ken.kasahara@chitose-bio.com

Phone & Fax: +81-44-741-2168

Received: Mar. 19, 2020/ Revised: Apr. 30, 2021/ Accepted: Apr. 30, 2021

Abstract

The fermentation process is commonly employed for brewed beverages and foods e.g. amino acids, vitamins, enzymes, and antibiotics. The fundamental technology was, however, already established between the 1960s and 1970s and very few signs of progress have been made since then. The biggest reason is, such complex biological process requires precise and sensitive control which is even difficult for skilled engineers. In this paper, several experiments to evaluate the effectiveness of the bioproduction management system with artificial intelligence (AI) are described. A set of detailed-describable sensor data from cultivation batch integrates into convolutional data, which allows the AI to optimize bioproduction with appropriately formulated process control variables. The demonstration involves experimental microbial production with 5L culture tanks. The system achieved a certain degree of improvement in yield for productivity factors through prediction and control instruction by the convolutional data and the AI.

We are confident with the result and the AI would become an innovator in emerging bioeconomy markets through inheriting tacit knowledge of experts and beyond them.

Keywords: bioproduction management, convolutional data, AI, microbial fermentation, sensor data

はじめに

生物に立脚した経済社会としてバイオエコノミーという概念が国際的に提唱されており、経済協力開発機構(OECD)は、バイオエコノミー市場が2030年までにGDPの2.7% (約200兆円) にまで成長すると予想している¹⁾。微生物を活用した発酵プロセスにより生産されるものとしては、酒類などの醸造品のほか、アミノ酸やビタミン類、食品加工用酵素や抗生物質などが挙げられる¹¹⁾。さらに、今後は合成生物学の進展に伴いより単価の安い化成品生産も期待されている¹⁴⁾。また、農産品においても土壌の微生物の重要性が認識されており、有機性排水処理においても微生物が重要であることが知られている。

*本ミニレビューは、編集委員長のミスで原稿受け取り後、審査が為されていなかったことが判明しました。受け取りから改訂版受け取りまでの期間が極めて長くなっていることは、このことが原因です。関係する皆さまに深くお詫び申し上げますとともに、再発防止に努めてまいります。

世界の経済成長に伴い、バイオエコノミー市場も着実に成長を続けているものの、発酵プロセス技術は1960-70年代にその基本形が確立されて以降、ほとんど変化していない¹³⁾。また、農業生産や排水処理も、現場技術者それぞれが持つ経験と勘に依存した要素が多く残っており、技術発展も頭打ち状態が続いている。その大きな要因として、生物を扱う複雑なシステムのかきめ細かな情報まで取得することが困難であることと、仮に大量のデータを集めたとしても適切に解釈することが困難であるため、現場技術者の五感と勘に頼らざるを得ないことが挙げられる。

近年、バイオ産業の現場においても、センサの小型化・低価格化によって大量の計測データ取得や、ゲノミクスやメタボロミクスなどの先端的なバイオ分野では高次元の計測データが取得可能となってきた¹²⁾。収集した大量の計測データを価値あるものとするためにデータサイエンスや機械学習・人工知能(AI)などのデータ駆動型研究が注目を浴びている¹⁰⁾。微生物を用いた培養においても、多くのセンサデータをリアルタイムに処理し、意思決定や制御に活かす取り組みが期待されている^{2),5)}。

そこで我々は、培養中の様々な現象を詳細に記述できるセンサデータを収集し、それを説明変数として、温度や pH などのバイオ生産に関わる最適制御入力を生成する予測モデルを活用した AI を開発している。ここで AI に学習させるべきデータとは、機械学習に適したデータであり、必ずしも人の理解を介さないデータと考えている。我々はそのようなデータを『コンボリユーショナルデータ』と呼んでおり、その要件は、リアルタイムかつ詳細に現象を記述できることである。そのため、我々は AI の開発と並行して連続・非侵襲・安価・多変量に取得できるセンサの開発・実装をすすめている。

本項では微生物の活動をリアルタイムかつ詳細に記述できるコンボリユーショナルデータを活用し、バイオ生産を動的に捉え、マネジメントするためのバイオ生産マネジメントシステムについて紹介する。**発酵生産現場におけるコンボリユーショナルデータの現状と課題**

発酵生産では、微生物は培養状況に応じて、様々な原料を取り込み、様々な代謝産物を生産する。コンボリユーショナルデータはこの培地成分の時々刻々の変化の情報を含んでいる必要がある。

発酵生産のデータを取得するセンサとして一般的なものは温度、pH、溶存酸素(DO)、酸素濃度、CO₂濃度、濁度(OD)、導電率(EC)、酸化還元電位(ORP)などである(表1にセンサの例を示す)。

これらのリアルタイムデータの他、培地をサンプリングし、基質や生産物の濃度を計測した間欠的なデータもバイオ生産の状態を人が判断するために使われる。これらのデータはそれぞれでは一次元であり、人が扱いやすいデータではあるが、複合的に判断することは容易ではない。その上、これらのデータを集めても発酵制御には不十分であり、総合的な判断は技術者の経験に立脚した暗黙知に依るところが大きい。

したがって、次の2つの課題を克服することが発酵制御のブレークスルーに必要である。

①AI 判断に寄与するコンボリユーショナルデータを拡充させるためのセンサを開発する

センサ名	次元数	普及レベル
温度計	1	標準的
pH 計	1	標準的
溶存酸素計	1	標準的
酸素濃度計	1	標準的
CO ₂ 濃度計	1	標準的
濁度計	1	市販品あり
導電率計	1	市販品あり
酸化還元電位計	1	市販品あり
分光装置	数百~数千	研究が進んでいる
RGB センサ	3	培養への適応に期待
ガスセンサ各種	1	培養への適応に期待
粘度計	1	培養への適応に期待
振動センサ	数百~数千	培養への適応に期待
電位センサ	~数十	開発中

表1. コンボリユーショナルデータの収集に利用可能、および利用が期待されるセンサの例。

本稿で紹介するセンサ以外にも、例えば培地の粘性を計測するなど様々なセンサが考えられる。また、(表1の)最下行に表記した電位センサは我々が開発中のセンサであり、本稿で詳しく解説する。これまで利用されていない分光装置や多種のガスセンサなどを加えると、データの次元数は飛躍的に増加することが見て取れる。ただし、分光装置や振動センサにおいて、隣り合う波長や周波数は独立な次元ではなく解析によって次元を圧縮し得る。この様に豊富な情報の中から重要な情報を絞り込む技術は、コンボリユーショナルデータの解析に重要になると予想される。

②多次元かつ時系列のコンボリユーショナルデータを適切に解析できる AI を開発する

以下ではこれら 2 つの課題に対する我々の取り組みを紹介する。

コンボリユーショナルデータを取得するセンサの概要と新規開発の取り組み

発酵生産において微生物の代謝は時々刻々と変化し、特に培地中の特定の栄養素の枯渇や溶存酸素の枯渇などに対して即座に代謝変化が起こり、数分後には培地の変化となって現れるため、新規に導入するセンサの時間分解能は分レベルのリアルタイム計測が可能なものが望ましい。また、計測自体が微生物の動態や培地の成分に対して影響を与えないという非侵襲性も重要な要件となる。

例えば、近赤外光を用いた分光測定はリアルタイム性、非侵襲性で優れている。C-H や N-H、O-H 結合は近赤外域の波長の光を吸収するが、同様の結合であっても分子種ごとに各結合が吸収する光の波長が少しずつ異なるため、培地成分の変化に応じて吸収スペクトルが変化する。様々な代謝産物の混合物である培地のスペクトルはそれぞれの吸光が重なり合った複雑なものであり、解析は容易ではないが、抗体生産培養におけるグルコースと乳酸濃度の推定に用いている例⁸⁾や排水処理プロセスのモデル系を解析した例⁴⁾があり、各方面で研究が進められている。

従来経験豊富な技術者が行なってきた、培地の色を見るという部分を科学的に解析する試みとして、RGB センサがある。ヒトの色覚は赤、緑、青に吸収極大を持つ 3 種類のオプシンによって成り立っているが、RGB センサはこれに相当するものである。一方、分光装置ははるかに大きい波長分解能があり、これによって技術者の目を超えられるのか興味深いところである。

培地の匂いもバイオ生産の状態を判断するのに有用な指標となる。例えば、揮発性有機化合物 (VOC) の総体を捉える一次元の簡易センサがある。その他、揮発性の物質を特異的に検知するセンサは多数市販されている。近年では、匂い分子を吸着する膜を用いたシステムなど様々な測定技術が開発されてきている⁹⁾。

ここまで、人の五感に近いセンサを紹介してきたが、最後に異なった計測原理に基づく電位センサを紹介する。エネルギー代謝における NAD⁺や NADH などの酸化還元対に代表されるように生物にとって酸化還元状態は生存に極めて重要な要素である。そのため、細胞内外の酸化還元状態をセンシングする機構を数多く発達させてきた^{3), 6)}。我々が開発した

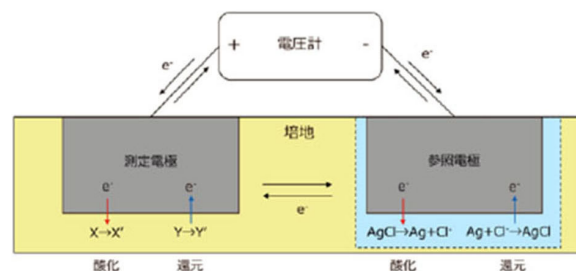


図 1. 電位測定の概略図。

Ag/AgCl 参照電極内は培地が侵入しづらいように多孔質ガラスなどで仕切られており、常に一定の電位を保っている。一方、測定電極では培地内の様々な物質が酸化還元反応を起こし、培地成分の変化により酸化還元反応も変化するため計測される電圧が変化する。なお、電圧計の抵抗は非常に大きく、実際の電子のやりとりは非常に少ない。したがって、酸化還元物質の消費による影響は抑えられている。

電位センサはこれに相当するもので、電極表面で起きる酸化還元反応の情報を得ることができる。

図 1 に示す通り、異なる材料からなる電極を同じ水溶液に漬けるとそれぞれの電極上で電子のやり取りが起き、反応の種類と量によって電圧値が変化する。この測定は電池の電圧を測定するのと原理的には同じであるが、出力が弱いためこの用途の電圧計には特別な仕様が要求される。基準となる参照電極は一定の酸化還元反応が起きるように設計されており、この電極との間の電圧を計測することで測定電極の電位が求まる。

ここで重要な点は測定電極の種類によって、表面で起きやすい反応には違いがあり、同じ溶液に対しても計測される電位は異なることである。一般に普及している ORP センサは白金電極と Ag/AgCl 参照電極間の電圧を計測するものであるが、白金電極は酸素との反応性が高く (燃料電池の電極触媒として用いられる所以である)、他の物質の有無については計測値に反映されづらい。そこで、我々は多種類の測定電極を持つ電位センサを開発した (図 2)。最初の取り組みとして、発酵生産試験において白金、金、ガラス状カーボンの 3 種類の電位データを収集し、生成物の収量予測に用いたところ、白金電極一種のみを用いるよりも予測精度が向上する結果を得て、特許を取得した (特許第 6606625 号)。現在、電極種をさらに増やしてデータ収集を行い、解析技術の向上にも取り組んでいるところである。

AI の開発

学習に必要なコンボリユーショナルデータを収集

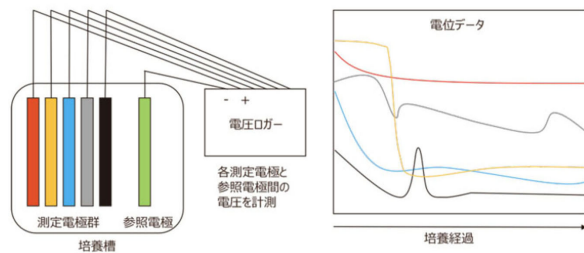


図2. 多ch電位センサの概略図.

開発した電位センサは多種の測定電極を並列に持ち、共通の参照電極間の電圧を計測する。電極種により、起きやすい酸化還元反応が異なるため、各電極で計測される電位は異なったものになる。右のグラフは培養経過をリアルタイムに計測したイメージ図である。こうした複合的な電位変動データからAIによって重要な情報を読み取る。

するために、制御対象となるパラメータの制御想定範囲から、ラテン超方格法⁷⁾により培養条件を決定し、センサデータを取得した。ラテン超方格法は、設計空間を均一にサンプリングする手法であり、2種以上の培養条件の組み合わせを効率よく決定することができる。

今回紹介する事例では、最適制御の目標は、培養中の予測生産量を最大化することと定めた。予備検討として、培養中のある時点の説明変数に対して、目的変数を同じ時点から420分後までの20分間隔で設定し、各時点に対して機械学習による予測モデルを作成した。今回の検討では、説明変数の組み合わせや前処理の違いによる予測性能の違いを適切に評価するため、アルゴリズムはランダムフォレスト回帰に固定し、ハイパーパラメータの変更を最小限とした。各モデルの性能評価をグループK-分割交差検証によって行なった結果、60分先までの予測では $R^2 = 0.95$ の高い予測性能を示したが、予測時間が長くなるほど予測性能は低下し、420分先の時点の予測では0.6程度となった。ここでは予測精度を優先して、60分先の予測を目的変数に設定することにした。培養制御実験では、60分先を予測するモデルから目的変数を最大化する制御パラメータを求め、最

適制御入力として使用する。

微生物発酵生産における培養フェーズには、誘導期、対数増殖期、生育減衰期、そして定常期があり、フェーズ毎に培養状態に対する生産量の応答は変化する¹³⁾。予備検討により、培養フェーズ毎に作成したモデルと、一部区間を除く時間領域の大半を対象として作成したモデルの性能を比較した結果、前者の性能がやや高い傾向がみられ、我々の培養系でもフェーズ毎に生産量の応答が変化することが示唆された。しかし制御システムにおいては、一つのモデルで培養時間全体をカバーできる方が作業性やメンテナンスの面での利便性が高いため、全ての時間領域をカバーする予測モデルを開発した。

AIによる培養制御試験の実施

培養制御実験は3つの制御試験方式で実施し、それぞれを評価した。表2に今回の培養制御試験の実施概要をまとめた。制御試験①は、選定したモデル(表2)を用いて生成した静的な(培養時間中一定の)最適制御入力による制御試験である。この静的な最適制御入力の生成には、培養時間毎に生成された最適制御入力のうち、目的変数のスコアが高い培養後半の時点のものが優先される手法をとった。制御試験②は、制御試験①と同一のモデルを用いて生成した動的な(培養中変化する)最適制御入力による制御試験である。AIによって生成された予測値にはノイズがあるため、実際の設定値は制御しやすいように丸めているが、最適制御入力の生成過程で得られたハイスコアの制御入力分布に基づく、そのことによる生産量への影響は無視できると考えられた。制御実験③は制御試験①・②で使用したモデルを更新し、それに基づき生成した動的な最適制御入力による制御試験である。この更新モデルは、これまでの訓練データに制御試験①・②のデータを追加し、かつ再度外れ値の確認および除外を行った訓練データセットを学習させたものである。

それぞれの制御試験の結果を図3示した。これは各培養制御試験(表2)の生産量の時系列推移を60分毎の箱ひげ図で示したものである。白色のバーは

培養制御試験種別	予測モデル種別	訓練データセット種	最適制御力の種類	反復数
制御試験①	ML_model_1	Dataset_1	静的	9
制御試験②	ML_model_1	Dataset_1	動的	7
制御試験③	ML_model_2	Dataset_2	動的	4

表2. 培養制御試験実施概要

- 制御試験の最適制御入力を生成した機械学習モデルの種別を表す。
- 機械学習モデルに使用した訓練データセットの種別を表す。
- 静的：培養中制御パラメータの値が一定である。動的：培養中制御パラメータの値が変化する。

訓練データの実測生産量、青色のバーは制御試験の予測生産量、赤色のバーは制御試験の実際の実験の生産量であり、赤と青が重なるのは予測生産量と実際の実験の生産量が同じ、すなわち予測精度が高いことを意味している。

全ての制御試験で予測精度が高く、モデル設計において予測精度を優先したためと思われる。制御試験①（図3上図）では、培養後半の制御試験の実際の実験の生産量が、訓練データの生産量よりも有意に高かった一方で、培養前半では訓練データよりも有意に低く、培養前半の制御に課題があると考えられた。静的な最適制

御入力が、培養後半の最適制御入力が優先される手法を取ったことから、培養前半で生成された最適制御入力も適用できる動的な最適制御入力に変更することで、それが改善する可能性があると考えられた。よって動的な最適制御入力を生成し、制御試験②（図3中図）を実施した。その結果、制御試験①と同様、培養前半の実際の実験の生産量が訓練データの生産量よりも低い傾向で、培養前半の生産量の改善はみられなかった。これは両制御試験の最適制御入力とも同じモデルを用いて生成したことが原因として挙げられる。それは学習させた訓練データにモデルが大きく依存するた

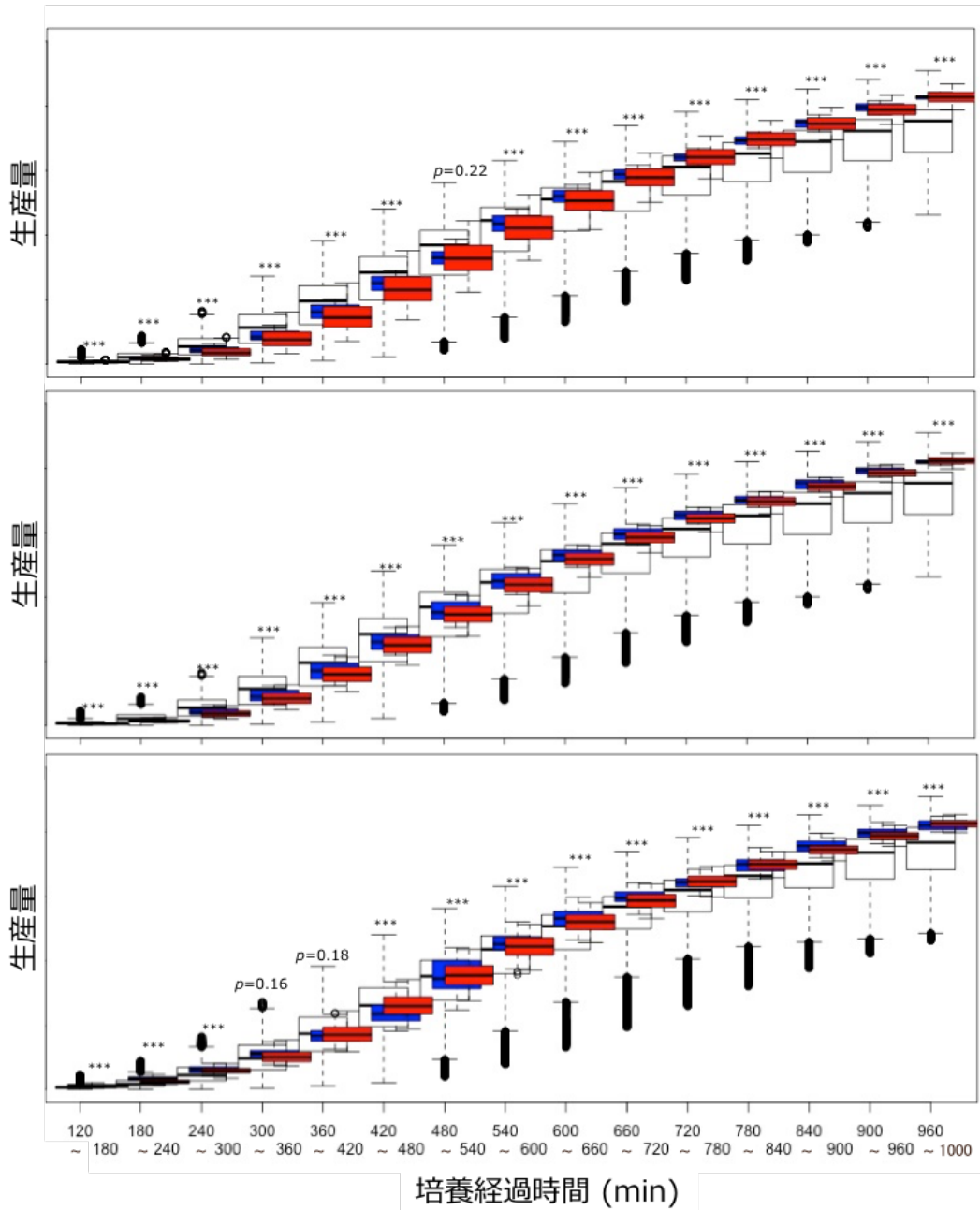


図3. 各培養制御試験（表2）の実測生産量および予測生産量の時系列推移。培養経過1分間隔のデータを60分毎の箱ひげ図で示した。白色：訓練データの実測生産量。青色：制御試験の予測生産量。赤：制御試験の実際の実験の生産量。p値は訓練データの実測生産量と制御試験の実際の実験の生産量のt検定に基づく（***： $p < 0.001$ ）。

め、訓練データの数や質の問題に起因する。一方で変動係数に基づくと生産量が安定的な傾向がみられたことから、制御試験②の動的な制御入力への適用は、制御試験①の静的な制御入力よりも安定的に高い生産量が得られる可能性が考えられた。更新モデルを用いた制御試験③ (図3 下図) では、培養前半の生産量が訓練データの平均程度となり、制御試験①・②より高くなった。また最終到達濃度についても制御試験①・②に比べて有意に高くなり ($p < 0.001$)、生産量に関する改善がみられた。このことから制御試験③の最適制御入力の精度は、モデルの更新により、制御試験①・②で用いた最適制御入力よりも高くなったと考えられた。制御試験全体を通じて、60分後の生産量の予測精度が高く、また培養後半における制御試験の実際の生産量は訓練データの生産量よりも高かった。制御試験②では制御試験①に比べて生産量の安定性に関する改善がみられ、制御試験③では制御試験①・②よりも生産量が増加した。このことから我々の培養系において、AIが生成した最適制御入力による制御試験を積み重ねることで、生産性因子の改善を図ることができたと考えられた。

以上バイオ生産におけるAI導入の一事例を示した。ここではモデルの予測精度を優先としてモデルを設計しているが、今後は生産量の向上を優先とし、例えばより遠い将来を予測し続けるといった設計も検討が必要だろう。また新規センサから取得したデータを訓練データに追加してモデルを作成し、その性能を評価していく取り組みも進めていく予定である。

おわりに

本稿ではコンボリューショナルデータとAIを活用した次世代の培養制御技術開発の取り組みについて紹介した。我々は培養槽に各種センサを接続することで、これまでよりも飛躍的に多くのデータを得ることに成功している。このようにして得られたデータは培養状態に関わる豊富な情報を含んでいるが、多次元の時系列データであり人間の脳では扱うことが難しい。これに対して我々は複合的なデータから適切な培養条件を予測するAIモデルの開発に成功しており、新規センサの導入や解析技術の向上によってさらなる改善が期待される。一方、現時点のAIモデルは動的制御のための最適制御入力を提示するに留まっている。また、提示された最適制御入力に対する判断や実際の培養槽への制御値入力は人間が実施している。産業への実装を想定すると、今後はリアルタイムに最適制御入力を行うAIの開発と制御入力を直接培養槽に送信し、人の手を介さず自動で培養槽を制御するシステムの開発が重要に

なってくるであろう。また、実際に培養に関与する技術者にとって使い勝手のよいシステムとなることも普及のために重要である。我々はこれらの課題を一つずつ克服していくことで、世界のバイオエコノミーの根本となる発酵生産の改善に貢献できればと考えている。

余談であるが、かつて職人の勘を科学的に解析する取り組みが大きなブレイクスルーを生み出した例がある。19世紀の後半ドイツの第二次産業革命のおり、工業の柱となる高品質の鉄を安定して生産する必要に迫られた。鉄の品質を保つためには溶鉱炉内の温度制御が重要であり、溶けた鉄の色から温度を予想することができる。しかし、これには熟練が必要であるため、大幅な増産に向けて科学的な解析が行われた。そこで登場したのが溶鉱炉内の光のスペクトルと温度との関係を与えるプランクの公式である。詳しい説明は割愛するがこのプランクの公式の導出過程で得られた知見(エネルギーが飛び飛びの値をとる)がのちの量子力学の誕生を生み、ひいては現代の科学文明に繋がっているのである。我々の取り組みからどのような知見が得られるのかアカデミックな面からも興味を持って見守っていただければ幸いである。

引用文献

- 1) Arundel, A., and Sawaya, D. 2009. The Bioeconomy to 2030: designing a policy agenda, Paris, France, Organisation for Economic Cooperation and Development.
- 2) 藤田朋宏・笠原堅, 2019. バイオとデジタルの融合—人の制御を超えたバイオ生産マネジメントにおけるAIの活用, B&I. 77(2): 174-177.
- 3) Green, J., Paget, M. 2004, Bacterial redox sensors. Nat Rev Microbiol 2, 954-966.
- 4) 本多典広, 長塩尚之, 吉岡雅也, 栗津邦男. 2011. 近赤外分光分析による微生物生成代謝物の推定に関する基礎的検討. EICA: 16(2・3): 38-44.
- 5) 菊地亮太. 2018. データ同化を用いた日本酒醸造工程の支援システムの開発. J. Brew. Soc. Japan. 114(11): 707-713.
- 6) Lopez-Mirabal, H. R. and Winther, J. R. 2008.

Redox characteristics of the eukaryotic cytosol, *Biochim. Biophys. Acta* 1783: 629–640.

- 7) McKay, M.D., Beckman, R.J., and Conover, W.J. 1979. A comparison of three methods for selecting values of input variables in the analysis of output from a computer code. *Technometrics*. 21: 349-245.
- 8) 生田目哲志, 中村幸弘, 伊崎文晃, 平野明成. 2017. バイオ抗体医薬生産ソリューション, 横河技報. 60. 2.
- 9) 南戸秀仁. 2009. 匂いセンシング技術とその応用. 日本放射線安全管理学会第 7 回学術大会特別公演. 2.
- 10) 野村敦子. 2019. データがもたらす経済・社会の変革. *JRI レビュー*. 9(70): 61-101.
- 11) 鮫島広年. 1974. 発酵業の進歩. *化学と生物*. 12(9): 606-612.
- 12) Shih, C., and Wang, C.H. 2016. Integrating wireless sensor networks with statistical quality control to develop a cold chain system in food industries. *Computer Standards & Interfaces* 45: 62-78.
- 13) Stanbury, P.F., and Whitaker. 1988. 発酵工学の基礎—実験室から工場まで. PP11. 石崎文彬(訳), 学会出版センター.
- 14) 統合イノベーション戦略推進会議. 2019. バイオ戦略 2019—国内外から共感されるバイオコミュニティの形成に向けて. URL: <https://www.kantei.go.jp/jp/singi/tougou-innovation/pdf/biosenryaku2019.pdf>

論文執筆要領

極限環境生物学会誌論文執筆要領

1. 一般的事項

(1) テキストファイル形式または Microsoft Word 形式で保存できるワードプロセッサ等を用いて原稿を作成すること。

(2) タイトルページには、1)論文題名、2)著者名、3)著者所属機関名、4)ランニングタイトル、5)連絡対応著者名およびその連絡先住所・電話番号・FAX 番号・e-mail アドレス、6)キーワード(5語以内)を明示すること。日本語で作成した論文には、これらの英語訳を併記すること。

(3) 論文印刷には A4 版用紙の片面を使用し、1行40字(英語の場合には1行60字)、1頁25行で印刷すること。イタリック、ボールド、あるいはスモールキャピタルにする語句がある場合は、それぞれ赤字で下線、波下線、二重下線を記すこと。

(4) 略語リストがある場合には、本文第1頁に脚注として略語の項を設け表記すること。単位系と省略記号は SI 単位を基本とする。

(5) 生物の命名及び記載は International Code of Nomenclature of Prokaryotes, International Code of Botanical Nomenclature, International Code of Zoological Nomenclature に従う。学名が初出の場合は全部を記載すること。原則として、2回目以降は属名の頭文字を略号とするが、紛らわしい場合には省略せずに記載すること。

(6) 物質名の表記は以下の規定に従うこと。

1) 有機化合物の表記および放射性同位元素による標識化合物の表記は IUPAC 規定に従うこと。

2) 生化学関連事項の命名は IUPAB 制定の命名法に従うこと。

3) 化学式に用いられる記号、略号などは Chemical Abstracts の用例に従うこと。

(7) 論文受理後、完成した本文および図表等の印刷に必要な全てのファイルを収めた電子媒体を編集委員長宛に郵送するか、またはそれらのファイルを e-mail 添付書類として編集委員長宛に送付すること。

2. 投稿論文の構成

(1) 原著論文は 1)標題、2)アブストラクト、3)本文、4)引用文献、5)表ならびに図、図の説明文、の順にまとめること。

(2) 標題は論文内容を具体的に表す簡潔なものとする。標題の下に著者名、所属機関名、所在地を書く。著者が複数で、所属機関が異なる場合は、著者名末尾に上付数字を付けて区別するとともに、連絡対応著者名を指定すること。

(3) 原著論文ならびに総説のアブストラクトは英語で記述するものとし、通常論文・総説では 200words 以内、短論文では 100words 以内で作成すること。

(4) 通常論文の本文は原則として、緒言、材料および方法、結果、考察(あるいは結果と考察)、謝辞で構成する。短論文では項目分けをしない。

(5) 原著論文ならびに総説では、必要に応じて図表を用いる。それぞれの図表を挿入したい位置を、原稿右側の余白部分に指示すること。

(6) 文中での文献の引用は、引用文献の項目で整理した文献番号を用いること。図表の引用はその番号によること。

(7) 脚注が必要な場合には、該当事項の右肩に通し番号を付け、当該頁の下部に説明文を付けること。

3. 引用文献

(1) 引用文献は下記の例に準じ、本文中の該当人名あるいは事項の右肩に 1), 1-3)のように番号を付し、また、本文末尾の引用文献の項に第一著者のファミリーネームのアルファベット順に 1., 2., 3., --の番号を付し一括記載する。Ibid., idem は用いないこと。私信、未発表の研究結果、学術雑誌に受理される前の論文、抄録が印刷されていない口頭発表などは引用文献に含めないこと。雑誌の略号は、Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI) 1907-1984 (Cumulative)およびその補遺版により、雑誌名、書名、年、巻および頁の示し方は下記によること。

(2) 雑誌引用のとき

Chuakrut, S., Arai, H., Ishii, M., and Igarashi, Y. 2000. Characterization of a bifunctional archaeal acyl coenzyme A carboxylase. *J. Bacteriol.* 185: 938~947.

(3) 書籍引用のとき

児玉徹. 1997. V 近代的な微生物利用工業 1. アルコール, pp191~197. 児玉徹・熊谷英彦編, 食品微生物学, 文永堂出版

4. 表と図およびその説明

(1) 表と図は印刷版下を作成すること。

(2) 本文を英語で書いた場合には図表も英文で作成すること。

(3) 表と図は一つに対して1頁使う。各頁の右上に著者名ならびに図の番号を入れること。

(4) 表題は表の上部分に書くこと。表の内容説明文ならびに注は、表の下に記述する。注の表示には a), b), c) を上付で明記し、記述には a), b), c) を上付にせず用いる。

(5) 図の標題ならびに説明文は別紙にまとめて印刷すること。図の標題の最後にはピリオドを付し、内容説明は標題の後に改行して記載すること。

(6) 写真は明瞭な陽面を必要部数添付すること。

学会会則

極限環境生物学会会則

(名称)

第1条 本会は、極限環境生物学会（英文名：The Japanese Society for Extremophiles）という。

(以下本会という)

(目的)

第2条 本会は、極限環境生物研究の発展に寄与し、極限環境生物の研究、教育、利用の推進に寄与することを目的とする。

(事業)

第3条 本会は、研究発表会及び講演会等の開催、極限環境生物学会誌（英名：Journal of Japanese Society for Extremophiles）の発行、国際極限環境生物学会等との連携事業、研究奨励賞・ポスター賞の授与、その他前条の目的を達成するために必要な事業を行う。

(会員の種別等)

第4条 本会の会員は正会員、名誉会員、団体会員および賛助会員とする。

2.正会員は極限環境生物に関する研究に従事する、または、これに関心を持つ個人であって、本会の目的に賛同し、定められた会費を納めた者をいう。身分が学生である者および65歳以上となった正会員の会費は別に定める。便宜上これらの者をそれぞれ正会員（学生）および正会員（シニア）と称する。

3.名誉会員は、当学会の発展に功労のあった者で、幹事会による推薦・選考を経た後、評議員会による承認を経て、会長により指名される。

4.団体会員は極限環境生物に関心を持つ団体（法人等）であって、その団体内の本会の目的に賛同する代表者を含めて3名以内の所属者を指名して会員登録を行い、定められた会費を納めた団体をいう。

5.賛助会員は本会の目的に賛同し、定められた賛助会費を1口以上納めた個人または団体をいう。

第5条 会員は本会が開催する諸事業に参加し、本会の発行する印刷物、PDF等の配布を受けることができる。

(入会)

第6条 会員として入会しようとする個人または団体は、本会事務局が定める手続きに従って申し込みを行い、本会会長による承認を得なければならない。

(会費)

第7条 会員は下記の会費を納めるものとする。

正会員 年額 5,000円

（但し身分が学生である者および65歳以上となった正会員は申請により年額2,000円とすることができる。前者の場合は指導教員の署名、後者の場合は幹事会による事後承認を必要とする。）

名誉会員 年額 0円

団体会員 年額 20,000円

賛助会員 年額 一口以上（一口30,000円）

(退会)

第8条 会員は会長に届けることによって退会することができる。

(役員)

第9条 本会には会長1名、副会長2名、評議員若干名、幹事若干名、会計監査2名の役員をおく。

2. 会長は本会を代表し、会務を統括する。

3. 副会長は会長を補佐し、会長に事故ある場合には会長の職務を代行する。

4. 幹事は、幹事長、庶務、学術活動、会計、を分担し、事業計画の立案、事業の実施、庶務会計、シンポジウムの企画立案、学会誌発行、国際極限環境生物学会等との連絡などの本会の事務を行う。

5. 会計監査は本会の会計を監査する。

(役員を選出と任期)

第10条 会長、副会長、評議員は本会の総会において選出される。

2. 幹事、会計監査は、副会長、評議員以外の正会員の中から会長が指名し、総会の承認を受ける。

3. 会長、副会長の任期は2年とし重任を妨げない。

4. 評議員の任期は2年とし重任を妨げないが、原則として連続2期を限度とする。但し、会長が指名する者はこの限りではない。

5. 幹事長の任期は2年とし重任を妨げない。

6. 庶務幹事の任期は2年とし重任を妨げないが、連続2期を限度とする。

7. 年会幹事の任期は2年とし1期限りとする。

8. 庶務幹事、年会幹事以外の幹事の任期は2年とし重任を妨げない。

(名誉会長)

第11条 本会には名誉会長をおくことができる。

2. 名誉会長は、本会に対し大局的な見地による適切な助言を与える。

3. 名誉会長は、会長として学会の運営及び発展に特別の功績があった者で、幹事会による推薦、評議員会を経て、総会の承認を受ける。

(委員会の設置と委員の任期)

第12条 本会に学会誌編集委員会、研究奨励賞選考委員会、若手シンポジウム委員会を置く。

2. 学会誌編集委員会（会長指名の若干名で構成し、委員長は互選する）は学会誌の編集、論文審査の任にあたる。

3. 研究奨励賞選考委員会（副会長が委員長を務め、学術担当幹事と委員長指名の委員、計10名程度で構成する）は本会の研究奨励賞受賞者を選考する。

4. 若手シンポジウム委員会（会長指名の若干名で構成する）は学術担当幹事と共同でシンポジウムを企画立案し、運営をサポートする。委員の任期は2年とし2期限りとする。委員長は2期目の委員の中から互選する。

(評議員会)

第13条 評議員会は会長、副会長、評議員をもって構成する。会長は年1回以上評議員会を召集し、議長となり、会の重要事項を審議し総会に提案する。

(総会)

第14条 本会は原則として年1回総会を開き、会務を協議し議決する。総会は会長が召集する。

第15条 総会の議決は出席会員の過半数の賛成をもって行う。

(会計年度)

第16条 本会の事業年度は4月1日に始まり、翌年3月31日に終る。

(付則)

第17条 本会則の施行および本会の運営についての細則は総会の議決を経て別に定める。

第18条 本会則の変更は総会の議決を経て行う。

第19条 本会則は、1999年10月19日より施行する。

2001年11月29日改定

2002年12月1日改定

2003年12月1日改定

2005年11月7日改定

2007年12月1日改定

2010年1月1日改定

2012年12月1日改定

2013年10月26日改定

2017年10月16日改定

2018年12月8日改定

2020年4月1日改定

学会細則

極限環境生物学会細則

(会員)

第1条 入会を承認された正会員、名誉会員、団体会員、賛助会員は、所定の会費を速やかに納入する。

(総会)

第2条 総会の議案は副会長、幹事等と共に会長が作成し、評議員会の議を経た後提出する。議案には前年度の事業内容及び収支決算、新年度の事業計画、及び収支予算を含むものとする。

第3条 総会は会員の1/10以上の出席(但し委任状を含む)をもって成立する。

(役員を選出)

第4条 会長、副会長、評議員は会員の選挙によって決められる。会長は選挙によらず評議員を指名することが出来るが、総会での承認を必要とする。

第5条 会長は会員の中から少なくとも3名を選んで選挙管理委員を委嘱する。選挙管理委員は選挙事務を行う。

第6条 会長は、評議員会の承認を得て必要な委員会を作ることが出来る。

(名誉会員)

第7条 名誉会員に推戴される者は、推戴される年の学会年度始まりにおいて、満70歳に達している会員とする。

第8条 名誉会員の総数は、原則として会員総数の5%を目安とする。

第9条 名誉会員に推戴された者は、総会の席で、推戴の盾と記念品を贈呈される。

第10条 名誉会員は当学会の催すシンポジウム・年会等に招待される。

(評議員会)

第11条 評議員会は評議員の半数以上の出席(委任状を含む)をもって成立する。

第12条 評議員会の決議は出席者の過半数の賛成により成立する。

(退会)

第13条 会長は、会費を3年以上滞納した会員を退会させることが出来る。

(授賞)

第14条 研究奨励賞・ポスター賞の授賞規定は別途定め全会員に配布する。

(細則の変更)

第15条 本細則の変更は総会の議決による。

(付則)

第16条 今期の本会事務局は、東洋大学 理工学部 応用化学科 生命工学研究室 峯岸宏明研究室(埼玉県川越市鯨井) 内とする。

第17条 本細則は、1999年10月19日よりこれを実施する。

2002年12月1日改定
2003年12月1日改定
2006年6月30日改定
2007年12月1日改定
2010年1月1日改定
2012年12月1日改定
2017年7月21日改定
2017年10月16日改定
2019年11月17日改定
2020年4月1日改定



運営体制

極限環境生物学会運営体制 (2020-2021年度)

名誉会長	故 掘越 弘毅	
------	---------	--

会長	大島 泰郎	共和化工株式会社 環境微生物学研究所
副会長	伊藤 俊洋	一般財団法人北里環境科学センター
	井上 明	東洋大学 バイオナノエレクトロニクス研究センター

評議員 (50音順、敬称略)	
石野 園子	九州大学大学院 農学研究院
板谷 光泰	慶応義塾大学 環境情報学部
石田 真巳	東京海洋大学 海洋環境学科
伊藤 佑子	創価大学 工学部
大島 敏久	大阪工業大学 工学部
鎌形 洋一	国立研究開発法人産業技術総合研究
川上 文清	B&I サポート
河原林 裕	次世代バイオ医薬品製造技術研究組
倉光 成紀	大阪大学大学院 理学研究科
小林 哲夫	名古屋大学大学院 生命農学研究科
芝 弘孝	サントリー-MONOUKURI エキスパート株式会
高井 研	国立研究開発法人海洋研究開発機構
中川 和倫	愛媛県立今治西高等学校
中島 春紫	明治大学 農学部
野尻 秀昭	東京大学 生物生産工学研究センター
長谷川 功	日本大学 生物資源科学部
早川 敦	味の素株式会社 バイオフィン研究所
半澤 敏	東ソー株式会社
藤浪 俊	アメリエフ株式会社
藤原 伸介	関西学院大学 理工学部
藤原 健智	静岡大学 理学部
宮崎 健太郎	国立研究開発法人産業技術総合研究
森屋 利幸	共和化工株式会社
山岸 明彦	東京薬科大学 生命科学部
湯本 勲	国立研究開発法人産業技術総合研究
若木 高善	東京大学大学院 農学生命科学研究科

幹事会		
幹事長	中村 顕	筑波大学大学院 生命環境科学研究科
幹事会顧問	宇佐美 論	東洋大学 理工学部
	工藤 俊章	北里大学 生命科学部
庶務担当	道久 則之	東洋大学 生命科学部
	古園 さおり	東京大学 生物生産工学研究センター
編集委員長	石井 正治	東京大学大学院 農学生命科学研究科
編集副委員長	石野 良純	九州大学大学院 農学研究院
学会誌担当	古園 さおり	東京大学 生物生産工学研究センター
	相馬 亜希子	千葉大学大学院 園芸学研究科
M&E誌担当	八波 利恵	東京工業大学 生命理工学院
	布浦 拓郎	国立研究開発法人海洋研究開発機構
会計担当	高品 知典	東洋大学 生命科学部
	峯岸 宏明	東洋大学 理工学部
ホームページ担当	三輪 哲也	国立研究開発法人海洋研究開発機構
	黄川田 隆洋	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機
年会担当	嶋 直樹	国立研究開発法人産業総合研究所
	荻野 博康	大阪府立大学大学院 工学研究科
学術担当	跡見 晴幸	京都大学大学院 工学研究科
	伊藤 隆	国立研究開発法人理化学研究所
	伊藤 政博	東洋大学 生命科学部
	折田 和泉	東京工業大学 生命理工学院
	加藤 千明	国立研究開発法人海洋研究開発機構
	國枝 武和	東京大学大学院 理学系研究科
	栗原 達夫	京都大学 化学研究所
	郷田 秀一郎	長崎大学 工学部
	小西 正朗	北見工業大学 工学部
	仲宗根 薫	近畿大学 工学部
	東端 啓貴	東洋大学 生命科学部
	福居 俊昭	東京工業大学 生命理工学院
	若井 暁	国立研究開発法人海洋研究開発機構
	中村 聡	東京工業大学
会計監査	鳴海 一成	東洋大学 生命科学部

若手シンポジウム委員会		
委員長	郷田 秀一	創価大学 理工学部
委員	佐藤 喬章	京都大学大学院 工学研究科
	川本 純	京都大学 化学研究所
	Oleg Gusev	国立研究開発法人理化学研究所
	秀瀬 涼太	神戸大学大学院
	加藤 慎吾	国立研究開発法人理化学研究所
	亀谷 将史	東京大学大学院 農学生命科学研究科
	大平 高之	東京大学大学院 工学系研究科



編集委員会

委員長 : 石井正治 (東大)

副委員長 : 石野良純 (九大)

学会誌担当 : 古園 さおり (東大)、相馬 亜希子 (千葉大)、八波 利恵 (東工大)

学会事務局

〒350-0815 埼玉県川越市大字鯨井 2 1 0 0

東洋大学 理工学部 応用化学科 生命工学研究室 峯岸宏明研究室内

極限環境生物学会事務局 中村 颯 (幹事会幹事長)

E-mail: kyokugenjm10@extremophiles.jp

URL: <http://www.extremophiles.jp/>

学会誌編集

山本まみ

発刊日 2021年3月31日