

領域略称名：ポストコッホ生態  
領域番号：8106

令和3年度科学研究費助成事業  
「新学術領域研究（研究領域提案型）」  
に係る中間評価報告書

「超地球生命体を解き明かすポストコッホ機能生態学」

領域設定期間

令和元年度～令和5年度

令和3年6月

領域代表者 筑波大学・生命環境系・教授・高谷 直樹

## 目 次

### **研究組織**

|                  |   |
|------------------|---|
| 1 総括班・総括班以外の計画研究 | 2 |
| 2 公募研究           | 3 |

### **研究領域全体に係る事項**

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 3 研究領域の目的及び概要            | 5  |
| 4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況 | 7  |
| 5 研究の進展状況及び主な成果          | 8  |
| 6 研究発表の状況                | 13 |
| 7 研究組織の連携体制              | 18 |
| 8 若手研究者の育成に関する取組状況       | 19 |
| 9 研究費の使用状況・計画            | 20 |
| 10 今後の研究領域の推進方策          | 21 |
| 11 総括班評価者による評価           | 23 |

**研究組織**

(令和3年6月末現在。ただし完了した研究課題は完了時現在、補助事業廃止の研究課題は廃止時現在。)

**1 総括班・総括班以外の計画研究**

| 研究項目[1]                             | 課題番号<br>研究課題名                               | 研究期間                | 研究代表者<br>氏名 | 所属研究機関・部局・職                             | 人数<br>[2] |
|-------------------------------------|---|---------------------|-------------|---|-----------|
| X00<br>総                            | 19H05679<br>超地球生命体を解き明かすポスト<br>コッホ生態学       | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 高谷直樹        | 筑波大学・生命環境系・教授                           | 11        |
| A01-1<br>計                          | 19H05680<br>ポストコッホ微生物の分離・培養<br>の技術革新        | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 佐々文洋        | 九州大学・システム情報科<br>学研究院・助教                 | 1         |
| A01-2<br>計                          | 19H05681<br>分子分光プロファイリングによる<br>ポストコッホ生態物理化学 | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 重藤真介        | 関西学院大学・理学部・教授                           | 2         |
| A01-3<br>計                          | 19H05682<br>複合生物系を形作るポストコッホ<br>微生物          | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 野村暢彦        | 筑波大学・生命環境系・教授                           | 2         |
| A01-4<br>計                          | 19H05683<br>難培養性のポストコッホ微生物の<br>可培養化         | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 中井亮佑        | 国立研究開発法人産業技術<br>総合研究所・生命工学領域・<br>研究員    | 3         |
| A01-5<br>計                          | 19H05684<br>ポストコッホ・アーキア学:第3の<br>生命の姿        | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 跡見晴幸        | 京都大学・大学院工学研究<br>科・教授                    | 2         |
| A01-6<br>計                          | 19H05685<br>ポストコッホ生態系における希少<br>放線菌の種と機能     | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 大西康夫        | 東京大学・大学院農学生命<br>科学研究科(農学部)・教授           | 2         |
| A02-1<br>計                          | 19H05686<br>微生物間相互作用が解き明かすポ<br>ストコッホ微生物機能   | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 野尻秀昭        | 東京大学・大学院農学生命<br>科学研究科(農学部)・教授           | 2         |
| A02-2<br>計                          | 19H05687<br>ポストコッホ機能生態系モデルの<br>構築           | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 高谷直樹        | 筑波大学・生命環境系・教授                           | 4         |
| A02-3<br>計                          | 19H05688<br>機能インフォーマティクスが解き明<br>かすポストコッホ生態系 | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 松井求         | 東京大学・大学院理学系研<br>究科(理学部)・助教              | 2         |
| A02-4<br>計                          | 19H05689<br>ポストコッホ微生物資源の基盤整<br>備            | 令和元年度<br>～<br>令和5年度 | 大熊盛也        | 国立研究開発法人理化学研<br>究所・バイオリソース研究<br>センター・室長 | 1         |
| <b>総括班・総括班以外の計画研究 計 11 件(廃止を含む)</b> |   |                     |             |   |           |

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数(辞退又は削除した者を除く。)

## 2 公募研究

| 研究項目[1]  | 課題番号<br>研究課題名  | 研究期間                | 研究代表者<br>氏名 | 所属研究機関・部局・職  | 人数<br>[2] |
|----------|--|---------------------|-------------|--|-----------|
| A01<br>公 | 20H05578<br>内生細菌の働きを理解すると<br>Mortieralla 属菌が作物生産へ利用<br>できる | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 成澤才彦        | 茨城大学・農学部・教授  | 1         |
| A01<br>公 | 20H05584<br>異種細菌種間付着共生系の実態解<br>明と生物進化へのインパクトの検<br>証        | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 本郷裕一        | 東京工業大学・生命理工学<br>院・教授                                     | 1         |
| A01<br>公 | 20H05585<br>アメーバをめぐるポストコッホ微<br>生物生態学                       | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 永井宏樹        | 岐阜大学・医学系研・教授   | 1         |
| A01<br>公 | 20H05587<br>極小空間の制御を鍵とする革新的<br>分離培養手法の開発                   | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 青井議輝        | 広島大学・先端物質・准教授  | 1         |
| A01<br>公 | 20H05588<br>環境に応答した微生物の生理機能<br>多様性とその1細胞解析                 | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 加藤節         | 広島大学・先端物質・助教   | 1         |
| A01<br>公 | 20H05590<br>ハイスループット電気化学培養法<br>による電気細菌の同時複数単離法<br>の開発      | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 岡本章玄        | 国立研究開発法人物質・材<br>料研究機構・国際ナノアー<br>キテクトニクス研究拠点・<br>グループリーダー | 1         |
| A01<br>公 | 20H05591<br>マイクロバイームの大規模継代<br>培養実験による共生関係の解明               | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 前田智也        | 北海道大学院・農学研究院・<br>助教                                      | 1         |
| A01<br>公 | 20H05593<br>w/o ドロップレット培養法を用い<br>た微生物バイオマス質化性微生物<br>の獲得    | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 野田尚宏        | 国立研究開発法人産業技術<br>総合研究所・生命工学領域・<br>研究グループ長                 | 1         |
| A01<br>公 | 20H05594<br>機能遺伝子の人為的導入による未<br>知微生物の培養化                    | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 加藤創一郎       | 国立研究開発法人産業技術<br>総合研究所・生命工学領域・<br>主任研究員                   | 1         |
| A02<br>公 | 20H05579<br>生態系構成因子としての“ウイル<br>ス”を独自技術で捉える                 | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 浦山俊一        | 筑波大学・生命環境系・助教  | 1         |
| A02<br>公 | 20H05581<br>複合生物系における微生物からの<br>生物活性物質の探索と機能解明              | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 繁森英幸        | 筑波大学・生命環境系・教授  | 1         |
| A02<br>公 | 20H05582<br>逆イジングモデル法に基づく機能<br>未知な微生物遺伝子の機能推定              | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 福永津嵩        | 東京大学・情報理工・助教   | 1         |

|                     |   |                     |      |   |   |
|---------------------|---|---------------------|------|---|---|
| A02<br>公            | 20H05586<br>微生物間相互作用から解き明かす<br>大腸菌ゲノムに残された機能未知<br>遺伝子の生理的役割 | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 本田孝祐 | 大阪大学・工学系研・准教授                           | 1 |
| A02<br>公            | 20H05592<br>ロングリードメタゲノム解析によ<br>る植物共生微生物叢のポストコッ<br>ホ的理解      | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 増田幸子 | 国立研究開発法人理化学研<br>究所・環境資源科学研究セ<br>ンター・研究員 | 1 |
| A02<br>公            | 20H05596<br>RNA 調製技術の高度化が明らか<br>とする植物体内の共生生態系の機<br>能実態      | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 菅野学  | 国立研究開発法人産業技術<br>総合研究所・生命工学領域・<br>主任研究員  | 1 |
| A02<br>公            | 20H05583 (廃止)<br>非根圏微生物を用いた根圏微生物<br>の予測モデルの開発               | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 李哲揆  | 東京農工大学・連合農学・助<br>教                      | 1 |
| 公募研究 計 16 件 (廃止を含む) |   |                     |      |   |   |

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

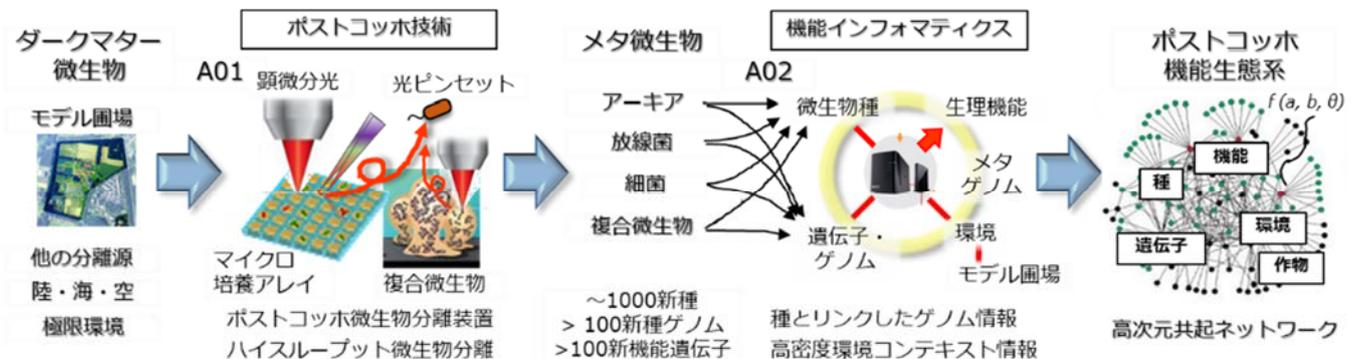
## 研究領域全体に係る事項

### 3 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

#### <研究目的>

我々にとって、かけがえのない地球は、地表の環境と多様な生物が複雑に相互作用し恒常性を維持する超地球生命体のシステムを形成している。この理解のためには、あらゆる生物と相互作用し、かつ量的にも、このシステムの中心である「微生物」を基盤とした新たな生態系を捉える学問が不可欠である。本研究領域では、理工学と微生物学の融合によるポストコッホ技術（項目 A01）の創出によって、大部分が未解明とされる生態系の微生物種の解明を目指す。さらに、生態学と情報学を駆使した機能インフォマティクス（項目 A02）によって、微生物の種と生理機能を基軸とし、微生物学の祖であるロベルト・コッホが見ることができなかった超地球生命体の新たな生態系モデルを創成する。これらを担うポストコッホ機能生態学は、超地球生命体の構築原理の解明を導く新学問であり、持続可能な地球を創成するための環境制御と積極的なデザインの技術へと波及する。



#### <全体構想>

上記の目的を達成するために、理工学、微生物学（A01）、生態学、情報学（A02）をそれぞれ専門とする10計画班を配置し、領域内での有機的な連携を目指す。中間評価までは、2つの研究項目を構成する各要素の研究基盤を構築すべく研究を進めてきた。今後の3年間でこれらの要素研究の融合を本格化させることで、ポストコッホ生態を描く計画である。

#### 研究項目 A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓

未だ分離されていない大部分のダークマター微生物を分離しその多様な生理的性質を解明することはブレイクスルーの一つである。そこで、本領域では、個々の研究者のセレンディピティーに基づいてきたコッホの微生物学および理工学分野の諸課題を解決し、これまで分離・解析されていない微生物の画期的な分離を担う「ポストコッホ技術」を開発し、多様な微生物の分離を進める。環境中の未知・未培養の微生物ダークマターの分離・培養に関して想定される問題点の解決のために、従来の寒天培地を用いた手法の革新を図り、最新技術を用いたハイスループット化が課題となる。このための要素技術は、マイクロ培養（A01-1）、識別（A01-2, 3）、分離（A01-1~6）、培養化（A01-1~6）である。

構築技術は、最終的に、~200種/年（全世界の年間微生物新種報告数の約半数）の発見を可能とすることを目標としている。本領域では、広範な微生物を対象とする微生物学の専門によって、微生物と複合微生物系を研究対象とするが（A01-4 一般細菌、A01-5 アーキア、A01-6 放線菌、A02-1 複合微生物）、研究の進展にあわせて圃場の作物（植物）や環境中の動物との複合系（公募班）も視野に入れた研究を展開する。バイオリソースセンター（A02-4）により、分離微生物のリソース化も行う。得られる新たな微生物と新たな微生物機能を統合させ、メタゲノムを凌ぐ莫大な「メタ微生物情報」を獲得する。

#### 研究項目 A02 機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系の創成

得られた「メタ微生物」の情報を集積して生態系モデルを構築するためには、長期にわたって安定なモデル環境を設定することが不可欠である。このために、基準となる生態系「モデル圃場」を設定し、領域研究者が一致団結して高密度の「環境コンテキスト」の情報を蓄積する。このモデル圃場は、長期連用試

験（～40年間）により安定性が確認された理想的な連作体系の畑作試験圃場であり、我が国では唯一である。施肥条件が異なる12試験区において6作物の4年8輪作の体系が維持されている。本領域が集積する情報は、微生物叢、微生物機能、土壌化学、作付け・施肥、作物、気象等である（A02-2が担当）。なお、本領域発足と前後して類似の取り組みが始まりつつあるが、長期安定性を持つために取得データの再現性が良いことが示され（本研究による成果）、露地栽培で生態系の解析ができる点は、国内外で唯一の畑作圃場である。

設定するモデル圃場の莫大な環境コンテキスト、微生物情報、既存の微生物関連情報をリンクさせたデータベースの作製と共起解析によって、これまで限定された微生物種のメタゲノム解析に頼ってきた生態系を、メタ微生物の種と機能、環境情報からなる高次元からなる相関ネットワークとして理解可能な「ポストコッホ機能生態系」へと革新させる。これに際しては、既存の情報学的手法とともに多様な情報を解析するために適した新たな解析手法も開発・利用する（「機能インフォマティクス」）。また、生態系を構成する未知・未分離の微生物やウイルスの機能を推定する手法の開発にも挑戦する（A02-3、公募班）。

### 領域運営

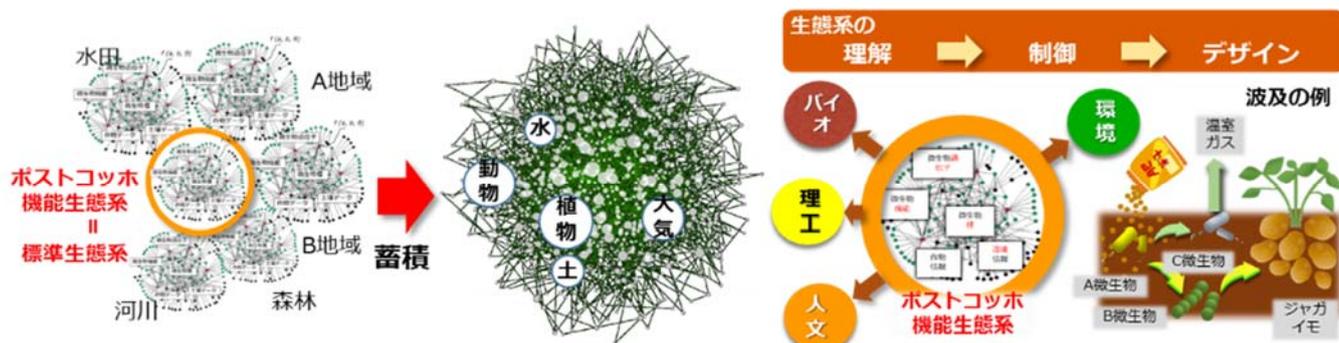
詳細は、項目7以降および総括班の項に示した。本領域は、開始当初から研究領域内で共同研究をスタートさせ、綿密な共同研究体制が計画されている。国内の学会、微生物関連研究センター（筑波大 MiCS、東大 CRIIM）、JST/ERATO 研究（2件）との連携した成果発信も目指してきた。若手の領域構成員を中心とした運営体制を採用し、評価者や学術調査官から「若手が生き生き活動している点が優れている」との評価を頂いている。2年間に10件を超える若手・中堅研究者の受賞やキャリアアップが生まれたこと、本領域微生物研究成果の社会実装に向けて「微生物エコテクノロジー社会連携講座」（東大・農 vs ダイキン(株)）の設置に貢献し、准教授、講師、助教各1名を新規採用したことは、領域の取り組みによる大きな成果である。

### <期待される革新的・創造的な学術研究の発展>

生態系の理解のためには、従来のメタゲノムから得られる微生物種・ゲノムの情報に加えて、メタ微生物の生理機能および莫大な環境コンテキストの情報を集積し情報解析することがブレイクスルーとなる。本領域の取り組みを通して、生態系を微生物の生理機能から要素還元的に理解する「ポストコッホ機能生態系のモデル」は世界初のものであり、他の生態系とも比較可能な世界初の標準生態系としての意義を持つ。さらに、得られるポストコッホ機能生態系モデルを地球規模に拡大することによって、将来の超地球生命体の理解・制御・デザインへと波及する。

汎用的なメタゲノム解析は、環境中の微生物に由来する“既知”遺伝子の数を飛躍的に増加させるが、これらの半数以上は機能を予測できない機能未知遺伝子であるために解析されずに捨てられてしまうことが情報学・生態学の課題となっている。この機能の解明を飛躍的に効率化させるためには、新たな機能を持つメタ微生物を分離することが律速であり、ポストコッホ技術は機能の解明の効率化にも貢献する。これによって、新たな微生物種と生理機能が拡大されれば、酵素産業、食品、農薬など微生物に関わる広範なバイオテクノロジー分野の発展とイノベーションが期待され、環境、健康、食料などの地球規模課題の解決が期待される。特に、生物多様性の保全と生物資源の持続的な利用、合成生物学への遺伝子パーツの供給効果は莫大である。また、微生物を扱うポストコッホ技術は、腸内細菌の機能解明、腸内細菌を用いた診断・治療の技術、脱抗生物質時代の新たな微生物制御技術の礎として医療にも貢献する。

微生物は、SDGsのほとんどに関わっていることから、本領域は分野を越えたSDGsを支える基幹学問分野へと発展する。



## 4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

<審査結果の所見において指摘を受けた事項>

(1) 圃場という環境因子が把握しやすいフィールドを各計画研究が共通のフィールドとして研究することにより、効率良く有機的な研究の展開が期待できる反面、生態学的視点や波及効果が限定的となることがないよう慎重な領域運営が望まれる。

<留意事項（領域代表者限り開示）>

(2) 微生物有用二次代謝産物の探索と活用に関する研究については、公募研究による補完が望まれる。

(3) 圃場に対象を絞るのはメリットがある一方、生態学視点や波及効果が限定的となることがないよう、慎重な領域運営が望まれる。

### (1) 生態学的視点や波及効果が限定的とならないための取組み

当初計画であるモデル圃場の生態系の全貌解明は、それ自体が挑戦的かつ大きな研究課題である。また、他の生態系に適応するための基盤となる標準モデルとなる点で、第一に達成しなくてはならない最優先課題である。中間評価時までには、この新たな取り組みの基盤を創成することに集中し、ハイスループット微生物分離・識別の基盤構築、圃場内外の新種（候補）微生物の分離と機能解明、圃場データの取得と情報解析の成果を得ることができた。

当初計画では、モデル圃場の生態系における解析対象となる微生物を一般細菌、アーキア、放線菌に限定していた。頂いた指摘に対応し、計画班による微生物分離・培養の対象を、モデル圃場だけでなく一般土壌や水圏へ解析対象を拡大した。さらに、公募研究によって、他の微生物群へ分離・解析対象を拡大することで、本領域が得る標準モデルを他の生態系に適用する際の普遍化を視野に入れた。即ち、公募班では、水圏アメーバ (A01 永井)、糸状菌 (A01 成澤)、シロアリ共生系 (A01 本郷)、植物共生菌 (A02 菅野、A02 増田)、生態系ウイルス (A02 浦山) など多様な生物と関連する微生物や、圃場以外の生態系に由来する微生物の分離、微生物の新規機能、微生物叢の解析にも着目することが可能となった。

モデル圃場が他と比べて特異性の高い生態系であった場合には、ここから得られる成果の一般化・応用を可能とするために、情報学を駆使して対応する計画である。このために A02-3 班は、モデル圃場から既に得られている4作付け分のデータを NCBI や GTDB 他の公共データベースから得られる生態系データと比較することで、本領域で得られた成果の特異性と一般性、応用性についての検討を開始している。残りの期間で、他の生態系への構築技術と理論の拡張、他の生態系データとの合体を目指す。

### (2) 微生物有用二次代謝産物の探索と活用に関する研究について

公募要領・説明会において二次代謝等の代謝を専門とする研究者に周知することで、新たに二次代謝産物の探索の専門家 (A02 公募・繁森)、二次代謝の誘導活性が期待される環境ウイルスの研究者 (A02 公募・浦山) を補充することができた。これまでに農芸化学会等の関連研究者が多く集まる大会シンポジウム等を通して、領域の活動を広報してきた。2回目の公募でも、公募説明会やホームページでの掲載によって関連研究者を更に増員し、微生物由来の二次代謝産物の研究を充実させる計画である。

計画班 (A01-6・大西) では、希少放線菌の「分離」だけでなく「二次代謝機能の解析」も重視して研究を進める舵を切った。その結果、ポリケチド合成酵素および非リボゾームペプチド合成酵素の構造と機能に関する新たな発見につながり、*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021 (2報)、*Nat. Chem. Biol.*, 2020 (1報) 等のインパクトの高い論文が発表できた。新規の化学構造を有する低分子化合物は、微生物の各種代謝機構の解明研究によっても発見されると期待される。例えば、アーキアの特異的な代謝 (A01-5 跡見)、植物配糖体、葉酸等のビタミン、その他の天然物の微生物分解 (A02-2 高谷、小林) の研究は、代謝中間体の化合物の構造決定を伴うが、既に多くの新規化合物が得られているので、構造・機能の多様性の切り口から本指摘事項に貢献したい。

### (3) 生態学的視点や波及効果が限定的とならないための取組み

上記(1)に示した。

## 5 研究の進展状況及び主な成果

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか、(2) 本研究領域により得られた成果について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。(1)は研究項目ごと、(2)は研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。

### (1) 研究の進展状況

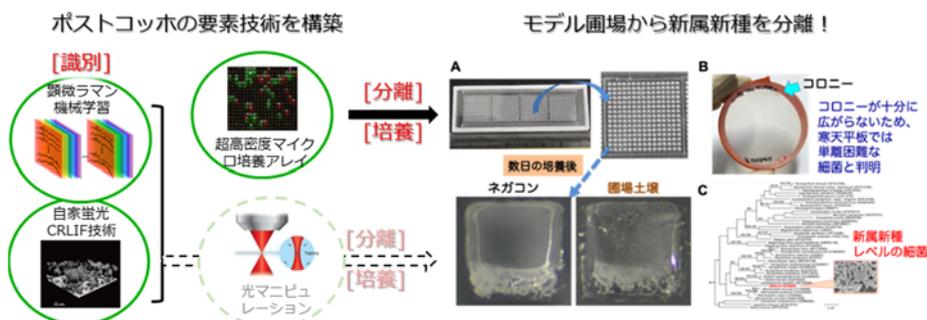
#### 研究項目 A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓

**進展と成果の概要：**公表論文数(査読有)102件、新たな領域内共同研究43件(A02と重複有)

中間評価までは、理工学・光学の基盤技術の確立、圃場等からの各種微生物(一般細菌、放線菌、アーキア)の分離のための基盤を確立することを目指した。このために、最適な工学・光学技術と微生物分離・解析技術の融合の共同研究を推進した。独自に開発したマイクロデバイスを使い、ハイスループット分離培養の基盤を作った。このマイクロデバイスを用い環境試料から新属の細菌を分離できた点が、特に優れた成果として挙げられる(A01-1)。独自の顕微自家蛍光技術(CRIF)を開発し、迅速・簡便に異種細菌を一細胞レベルで識別可能とした(A01-3)一方で、顕微ラマン分光と機械学習を組み合わせた新技術による異種細菌・アーキアの一細胞レベルでの識別、および自家蛍光では不可能な識別に寄与する化合物の特定も可能とした(A01-2)。これにより、ポストコッホ型の技術の要素技術をほぼ整えた(図)。

新たな技術と従来法の創意工夫により3000株を分離し、新種候補340種、新属以上の分類群の候補100株(モデル圃場からはそれぞれ39,7株)を得た。本領域での新種の記載27種(A02との合算数)

は、世界の年間記載数の5%以上である。今後は、個別の開発技術を光マニピュレーション技術などと共に融合させ、自在に微生物を分離可能なポストコッホマシンへと組み上げ、200種/年以上の規模の新種微生物(候補)の分離を可能にする計画である(項目10参照)。



#### A01-1 (計画班 佐々) ポストコッホ微生物の分離・培養の技術革新

本研究では BioMEMS 技術による簡単な操作で 10 万規模の超ハイスループットな微生物の分離・培養・分析を行うためのポストコッホ型の微生物培養実験プラットフォームの構築を目的としている。これまでに、マイクロデバイス操作を専門としない研究者が再現性よく培養・分離・分析可能な容易に扱える一連のマイクロ培養アレイデバイス群と操作の為の補助デバイスおよび標準操作マニュアルの開発に成功しており、着実に研究が進捗している。

#### A01-2 (計画班 重藤) 分子分光プロファイリングによるポストコッホ生態物理化学

本計画研究は、分光学・微生物学・情報学を融合し、分子スペクトルデータに基づいた微生物の網羅的プロファイリング手法の確立とその環境微生物試料への応用を目的としている。これまでに、細菌およびアーキアの 1 細胞から非破壊的に取得したラマンスペクトルの機械学習により、それらの種をその場で高精度に識別し、かつ二次代謝など生理的機能の解明に有用なラマンマーカーを探索する方法を実証するなど、着実に研究が進捗している。

#### A01-3 (計画班 野村) 複合生物系を形作るポストコッホ微生物

自家蛍光を用いた新規イメージングシステム(CRIF)を基盤とした、複合微生物の新たな分離・解析技術の確立を目的としている。これまでに、モデル菌を用いて CRIF による微生物間相互作用の可視化に成功し、着実に研究が進捗している。また、モデル圃場中の新規微生物間相互作用のスクリーニングも並行して行っている。

#### A01-4 (計画班 中井) 難培養性のポストコッホ微生物の可培養化

本計画班は主に細菌を標的とし、難培養性の微生物の培養化を目的としている。これまでに、培養化効率の向上に資する前処理法や分離条件を検討するとともに、領域内連携によって、マイクロデバイス試作機を用いた微生物培養技術の評価と改良を重ねた。本技術の活用により、モデル圃場から難培養性系

統に属する希少細菌の分離培養に成功するなど、着実に研究が進捗している。

### A01-5 (計画班 跡見) **ポストコッホ・アーキア学：第3の生命の姿**

真核生物・細菌と並ぶ第3の生物ドメインアーキアの種と代謝機能の多様性を解明することを目的としている。これまでに、国内外の多様な環境から試料を取得し、微生物の培養と分離・同定を進めている。一部の環境試料のメタゲノム解析による代謝ポテンシャルを検証・評価した。さらにアーキアのゲノム情報を基盤とした新規酵素、代謝経路の同定を進めている。これまでに、異なるアーキア種間のDNAのやりとり、未培養アーキア群のメタゲノム解析、アーキア由来の新規酵素の同定(複数)などを達成した。

### A01-6 (計画班 大西) **ポストコッホ生態系における希少放線菌の種と機能**

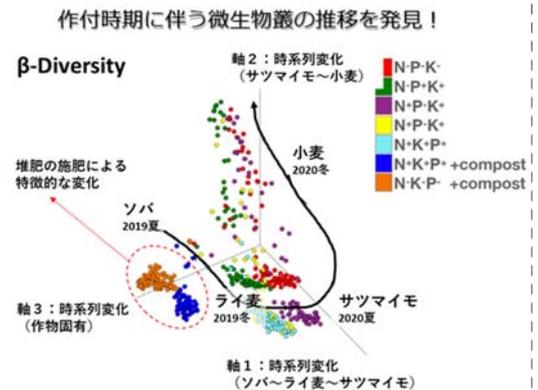
希少放線菌の新たな生理機能を明らかにすることにより、微生物の種と生理的性質の多様性を解明することを目的としている。これまでに、希少放線菌 800 株の単離を達成し、A01-1 班と共同で希少放線菌単離用のマイクロ培養アレイを開発した。また、モデル希少放線菌の形態分化制御の分子機構を解明するなど着実に研究が進展している。一方、審査結果の所見の指摘事項に対応し、二次代謝の研究を精力的に進め、インパクトの高い論文を複数発表した。

## 研究項目 A02 **機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系の創成**

**進展と成果の概要：公表論文数(査読有) 92 件、新たな領域内共同研究 45 件 (A01 と重複有)**

モデル圃場の作物・環境・微生物叢データを 4 年 8 輪作の体系に渡って取得し、この情報解析によりポストコッホ生態モデルの基礎を作ることを最終目的としている。中間評価時点での大きな成果は、モデル圃場の 4 作物の植物・土壌・微生物データベースの作成(世界最大規模かつ高再現性・高精度)と、連作体系での微生物叢変化の解明(世界初)であり(図)、生態学と情報学を融合した成果である(A02-2、A02-3)。次の 2 年間で輪作が一回りするので、輪作体系を支える微生物叢の発見という画期的な成果を導き、連作障害の回避技術の開発につながるものである。

この他にも、領域内共同研究を進めた。圃場生態系の理解のために重要な嫌気培養や相互作用解析を可能とするマイクロドロップレット技術の開発(A01-1、A02 公)、圃場常在性の細菌の新たな生理機能、細菌・アーキアと並び重要な土壌中を動く遺伝因子であるウイルス(A02 公)・プラスミド(A02-1)の生態学・機能の解明を進めた。今後は、実生態(モデル圃場)で起きることの実証試験、情報学を駆使した圃場微生物の機能予測(A02-3、公募班)、その責任微生物の分離と実証試験(A02-1、2、4)と分離微生物のリソース化も行う(項目 10 参照)。



### A02-1 (計画班 野尻) **微生物相互作用が解き明かすポストコッホ微生物機能**

各種難分解性炭素源を分解する微生物群集等の機能性微生物集団内部で起こる、集団ならではの微生物間相互作用を検出・解析するためのポストコッホ技術を開発・最適化し、それらを駆使して複合系でのみ発現する微生物機能やその変化(進化)を理解する。これまでに、芳香族化合物分解菌群内の代謝に関わる相互作用や、遺伝子水平伝播に関わる種々の相互作用の理解に有用なポストコッホ技術の最適化に成功し、興味深い複合系内の現象や遺伝子群の新規機能を発見しており、着実に研究が進捗している。

### A02-2 (計画班 高谷) **ポストコッホ機能生態系モデルの構築**

モデル圃場の微生物叢と各種の環境データを 5 年間に亘って取得し、この情報解析によりポストコッホ生態モデルの基礎を作ることを目的としている。計画通り 2 年分の圃場データを得ている。また、デバイスを活用した微生物分離(A01-1 と共同)、新規代謝を行う微生物の発見等、着実に研究が進捗している。審査結果の所見の指摘事項に対応し、新規微生物の分離源を圃場のみでなく一般土壌にも拡大することで、より普遍的な微生物についての知見を得ることを目指した。

### A02-3 (計画班 松井) **機能インフォマティクスが解明するポストコッホ生態系**

本計画では、生態学と情報学の新たな複合領域である「機能インフォマティクス」を創成することを目的としている。これまで、以下に列挙する通り、当初の計画通り着実に研究が進捗している。(1) ネットワーク構造から階層的な関係を取り出す汎用的な手法「Graph Splitting 法」を構築し、多項間関係を一気に解析することを可能にした。(2) 微生物間相互作用ネットワークの新たな解析手法「逆相関ネットワーク解析」を開発し、生態のニッチ構造を俯瞰することを可能にした。(3) 微生物生理機能をまとめた

データベース「Bac2Feature」を開発し、微生物生態の機能を明らかにする基盤を構築した。(4) 各班から得られた 16S rRNA メタゲノム、ショットガンメタゲノム、環境コンテキストの統合的解析を実施した。

#### **A02-4 (計画班 大熊) ポストコッホ微生物資源の基盤整備**

難培養性のものを含むポストコッホ微生物を自らも分離培養し、多面的に解析して新種として記載しつつ、一般の研究者が利用できるように整備して、研究分野の発展に貢献することを目的としている。これまでに、分離培養された多くの微生物を新種として報告して一般に公開し、共生系としてのみ培養可能な微生物も含め、培養や保存条件の検討、および、ゲノム情報解析により付加価値を高めることを達成しており、着実に研究が進捗している。

## **(2) 主な研究成果**

### **研究項目 A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓**

#### **A01-1 (計画班 佐々)**

**ポストコッホ微生物の分離・培養の技術革新** : A01-2/重藤、A01-3/野村、A01-4/中井、A01-5/跡見、A01-6/大西、A02-1/野尻、A02-2/高谷と連携

簡便な操作で使用可能な微生物培養マイクロアレイデバイス群の開発を行った。特に、個別の微生物種、環境、培養条件に合わせた、サイズや素材の異なる複数のバリエーションデバイスを開発した。また、デバイス上で培養した微生物アレイのレプリカ形成用デバイスなど、操作性や機能拡張のための周辺技術の開発も同時に行った。他の計画班との共同研究にて本デバイスを用いた新規微生物種が発見されるなど大きな進展を見せた。本技術の核となる微小計測技術の網羅的調査を行った総説 (Sassa *et al.*, *Lab on a chip*, 2020) を公表した。文部科学省若手科学者賞の受賞 (2021 年 4 月)、九州大学の若手早期昇任プログラム採択に至った。以上当初計画通りに研究成果が得られている。

#### **A01-2 (計画班 重藤)**

**分子分光プロファイリングによるポストコッホ生態物理化学** : A01-1/佐々、A01-3/野村、A01-5/跡見、A01-6/大西、A02-1/野尻、A02-3/松井、A02-4/大熊と連携

分光学に基づいたプロファイリングにより未知微生物を検出・分離するポストコッホ技術の開発に向けて、系統分類学的に多様な細菌およびアーキアの一細胞ラマンスペクトルデータと機械学習 (ランダムフォレスト) の組み合わせにより、これらの微生物を、ゲノム解析を用いることなく高精度に識別し、識別に寄与する重要なラマン信号を特定することに成功した (A02-3, A02-4 との共同研究。論文投稿中)。また、A01-1, A02-1 と協働して、本計画班が開発した分光計測装置とマイクロゲル培養デバイスや光ピンセットなどの分離技術との融合にも着手した。上記およびその他の異分野融合的な成果が評価され、准教授から教授への昇任につながった。

#### **A01-3 (計画班 野村)**

**複合生物系を形作るポストコッホ微生物** : A01-1/佐々、A01-2/重藤、A01-4/中井、A02-1/野尻、A02-2/高谷、A02-3/松井、公募班/岡本、公募班/浦山と連携

CRIF を用いることにより、微生物間相互作用を非破壊・非侵襲で可視化することに成功した。これを用いて、シグナル化合物に応答する微生物のスクリーニングと候補株を単離できた。また、モデル圃場の土壌から新たな物性を持つ膜粒子や新規微生物間相互作用の候補を取得し (A01-4 との共同)、微生物叢との相関を解析している。ハイスループットスクリーニングと 1 膜粒子イメージングの技術開発も行った (A01-1, A01-2 と共同)。代表的な土壌放線菌であるコリネ型細菌の膜粒子形成機構の解明 (Nagakubo *et al.*, *iScience*, 2021) および公募班 (岡本、浦山) との共同研究成果を公表し (Naradasu *et al.*, *Frontiers in Microbiology*, accepted)、共同研究者 (豊福) が日本微生物連盟野本賞を受賞した。

#### **A01-4 (計画班 中井)**

**難培養性のポストコッホ微生物の可培養化** : A01-1/佐々、A01-3/野村、A02-2/高谷、A02-3/松井と連携

難培養性微生物の培養化に資する前処理や培地条件を検討した結果、約 60 株の新規細菌を獲得し、その一部を論文公表した (Nakai *et al.*, *Microorganisms*, 2020; Sakamoto *et al.*, *Syst. Appl. Microbiol.*, 2021 [班間共同研究])。また、A01-1/佐々班との共同研究によって、これまでに培った培養ノウハウを活かし、マイクロデバイス試作機による微生物分離法の評価と改良を重ねた。さらにこのポストコッホ分離技術をモデル圃場からの新規微生物探索に応用し、*Alphaproteobacteria* や難培養性系統 *Acidobacteria* に属する希少細菌を分離した。新規な分離菌株については新しいバイオリソースとして理

研 JCM (A02-4/大熊班) に寄託するなど、計画通りに研究を遂行している。

#### **A01-5 (計画班 跡見)**

**ポストコッホ・アーキア学：第3の生命の姿**：A01-1/佐々、A01-2/重藤、A02-3/松井、A02-4/大熊と連携

2種の超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* と *Pyrococcus furiosus* の菌体同士を接触させるだけでゲノム上 DNA 断片がやりとりされることを見いだした (Extremophiles, A02-4 との連携)。国際共同研究により、深海底堆積物から *Thaumarchaeota* に属する未培養アーキア群のメタゲノム解析を進め、代謝ポテンシャルを明らかにした (ISME J.)。さらに *Bacteroidetes* ゲノム上で complex arabinoxylan 分解に関与すると推定されていた遺伝子クラスター内の複数の esterase について、それらの機能を解明し、基質からフェルラ酸を遊離する役割を果たすことを明らかにした (Pereira *et al.*, *Nat. Commun.*, 2021)。その他、構造的に新規なアーキア由来酵素を複数同定し (lipoyl synthase, Jin *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2020 SpotLight Report; Leu racemase, Zheng *et al.*, *J. Bacteriol.*, 2020)、アーキア代謝を理解する上で重要な知見を得た。

#### **A01-6 (計画班 大西)**

**ポストコッホ生態系における希少放線菌の種と機能**：A01-1/佐々、A01-2/重藤、A02-3/松井、A02-4/大熊と連携

従来の分離法を改良することで新種候補を含む希少放線菌 588 株を単離した。また、A01-1 班と共同で希少放線菌単離用のマイクロ培養アレイを開発した。モデル希少放線菌のユニークな生体成分の合成や分解や形態分化の制御の機構を解明した (論文 3 報)。なお、トリアシルグリセロールの孢子嚢壁局在に関して、A01-1 班と共同で顕微ラマン解析を開始した。生活環の各ステージでの網羅的遺伝子発現解析を A02-3 班と共同で行った。また、審査結果の所見の指摘事項に対応し、二次代謝の研究を精力的に進め、alazopeptin の全生合成経路の解明、ポリケチドおよび非リボゾームペプチド合成酵素の構造・機能相関の解明の成果をインパクトの高い論文に発表した (*Angew. Chem. Int. Ed.* に 2 報; *Nat. Chem. Biol.* に 1 報)。これらの成果もあって大西が日本放線菌学会・大村賞 (学会賞) を受賞した。

#### **公募研究**

成澤才彦 (茨城大)： *Mortierella* 属糸状菌、共生細菌および植物の 3 者の共生系を研究している。糸状菌へ共生細菌を人為導入するブレイクスルー技術の構築に成功した。

本郷裕一 (東工大)：シロアリ腸内原生生物に付着共生する *Desulfovibrio* 属細菌のゲノム解析を公表し、これと *Holosporales* 目の新規系統との相互作用に関する研究を進めた。

永井宏樹 (岐阜大)：新規アメーバ寄生・共生微生物の単離を試み、アシディミクロビウム綱に属する新種のポストコッホ型放線菌を 2 種分離した。

青井謙輝 (広島大)：環境微生物の新たな分離培養デバイスを複数開発し、ゲル微粒子を用いた新規高密度植菌培養法によって数 100 種レベルの未培養・難培養性の微生物の培養に成功した。

加藤節 (広島大)：低栄養と低浸透圧、低酸素ストレス条件に応答した新たな生理機能 (細胞分裂と細胞サイズ) の調節の分子基盤の解明を進めている。

岡本章玄 (物材研)：環境中の一細胞を分離し、電気培養可能な未分離の細菌を集積・単離することを初めて可能とした。今後、新たな微生物機能・種が見出されることが期待できる。

前田智也 (北海道大)：独自の全自動培養システムを用いた網羅的な継代培養技術によって、16S rRNA 塩基配列 < 95% の新規性の高い細菌を 11 種発見することができた。

野田尚宏 (産総研)：ゲル粒子、蛍光試薬、セルソーターを組み合わせた独自の微生物分離培養技術を構築した。これを用いて環境試料から複数の新種微生物を分離培養することができた。

加藤創一郎 (産総研)：目 (order) レベルで新規な微生物を含む活性酸素感受性菌 (希少微生物) を複数得た。これと希少微生物である *Verrucomicrobia* 門への遺伝子導入の新規技術を構築できた。

### **研究項目 A02 機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系の創成**

#### **A02-1 (計画班 野尻)**

**微生物相互作用が解き明かすポストコッホ微生物機能**：A01-1/佐々、A01-2/重藤、A01-3/野村、A02-4/大熊、公募/野田と連携

芳香族化合物等の疎水性基質分解微生物群の培養にも適用可能なマイクロドロップレット技術、また環境から取得されるプラスミドの宿主解明のためのエマルジョンドロップレット技術を公募/野田班と開発した。また、微生物集団内における一細胞レベルでの代謝の揺らぎやプラスミドの有無を、一細胞ラマ

ン分光を利用して検出することに A01-2/重藤班と共同で成功した。また、新規なプラスミドを多く単離すると共に、細菌が外来遺伝子を安定に保持する新規機構を発見した。さらに、宿主細菌細胞のプラスミドへの適応過程の検出にもフローサイトメーターを利用して成功している。これらの成果は、*Front. Microbiol., Environ. Pollut., Appl. Environ. Microbiol.*等で報告した。

#### A02-2 (計画班 高谷)

**ポストコッホ機能生態系モデルの構築**：圃場試料を利用する全ての班、A01-1/佐々、A02-3/松井、公募班/成澤、総括班と連携

4 作物・7 施肥条件の作付け、運営、データの取得ができた。得られたデータの基礎的な相関解析を終え、土壌窒素や pH と相関する微生物を解明し、計画通りに成果が得られている。A02-3 と共同で高度な情報解析を行うとともに、A01-1 とマイクロデバイスを共同開発し、圃場微生物のハイスループット隔離培養を可能とした。新たな機能をもつ微生物種・代謝の発見、機能の解析も進め論文も公表した。

#### A02-3 (計画班 松井)

**機能インフォマティクスが解明するポストコッホ生態系**：A01-2/重藤、A01-3/野村、A01-4/中井、A01-5/跡見、A01-6/大西、A02-2/高谷、公募班/福永、公募班/李と連携

Graph Splitting 法、逆相関ネットワーク解析、新たな手法やデータベース Bac2Feature を構築した (*Systematic Biology*, 2020)。以下の領域内連携を行った。A01-2：ラマン分光を用いた *de novo* 微生物識別のための機械学習や情報解析 (論文投稿中)。A01-5：圃場のショットガンメタゲノム解析による圃場のアーキア種のリストを作成。A01-6：放線菌の RNA-seq・TSS-seq 解析により転写開始点を網羅的に決定。A02-1：プラスミド保持株識別のための、ラマン分光データの機械学習 (論文投稿準備中)。A02-2：ソバ等作物栽培圃場データの統合解析 (論文投稿準備中)。A02 公：逆イジングモデルに基づく遺伝子機能解析手法の構築に向けた圃場のデータ解析。A02 公：根圏・非根圏の微生物モデルの構築に向けた統計モデルの提案。以上の通り、計画通りに研究成果が得られている。

#### A02-4 (計画班 大熊)

**ポストコッホ微生物資源の基盤整備**：A01-2/重藤、A01-05/跡見、A01-6/大西、A02-1/野尻、公募/本郷・李・増田・岡本と連携

本領域内や国内外・領域外研究者との連携で、これまでに 25 の新種微生物 (4 種の新属を含む) を記載報告した。新科新目に加え、新綱 *Conexivisphaeria* を提唱したアーキア種は自ら分離培養に成功し、培養性状とゲノム情報解析からその生態機能を明らかにした。この成果は ISME J 2019 に公表し、2019 年度の極限環境生物学会奨励賞の受賞に至った。また、多様な微生物種の提供や培養支援、シングルセル解析技術支援等により、領域内外と国際連携にも積極的に取り組み、共生微生物の機能解明と進化・適応に関する研究成果を *ISME J., Curr. Biol.*等の優れた論文で発表した。

#### 公募研究

浦山俊一 (筑波大)：独自の探索技術を超高感度化し、圃場の土壌から 100 種以上の新規 RNA ウイルスを発見した。RNA ウイルスの多様性が腐葉土 > 畑 (肥料有) > 畑 (肥料無) の順に高いことを解明した。

繁森英幸 (筑波大)：20 種の子囊菌類の培養抽出物から *Podostroma giganteum* を見出し、これを担う二次代謝産物である podogigant A および B の構造が明らかとなった。

福永津嵩 (東京大)：高精度なゲノム進化史推定手法である Mirage、Mirage の逆イジングモデル法との組み合わせ、微生物叢の緻密な時系列定量データのネットワーク解析に威力を発揮するソフトウェアである Umibato を開発した。得られた成果は *Bioinformatics* 誌の特別号に掲載予定である。

本田孝祐 (大阪大)：異種の微生物の共培養によって特異的に発現する遺伝子を探索し、モデル微生物 (大腸菌) を乳酸菌と共培養した際にアミノ酸合成系遺伝子の発現が変動することを発見した。

増田幸子 (理研)：独自のロングリードシーケンサーを用いて植物共生微生物叢の全ゲノム配列の解明を目指している。難培養性細菌 *Saccharibacteria* TM7 の完全長ゲノム配列を得る成果が得られた。

菅野学 (産総研)：圃場の植物試料から微生物 mRNA を効率的に分離する技術を得た。これによって、微生物群が植物との共生時に発現する機能情報を包括的に理解することを目指している。

李哲揆 (東京農工大)：機械学習といった様々な解析を駆使することで、非根圏土壌微生物叢と土壌理化学性から根圏微生物叢を予測するモデルの作成を目指した (令和 2 年度末で離脱)。

## 6 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、ホームページ、主催シンポジウム、一般向けのアウトリーチ活動等の状況。令和3年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

<主な雑誌論文・書籍> 計170件（査読有162件、査読無8件）\*以下に記載の論文は全て査読有

A01-1（計画班 佐々） 計2件（査読有2件、査読無0件）

1. Ge, L., Ye, X., Chen, B., Liu, C., Guo, H., Sassa, F., \*Hayashi, K., Chemiresistor sensor matrix prepared by full-printing processes, *Flexible and Printed Electronics*, 6-1, 015013, 2021
2. Sassa, F., Biswas, G. C., \*Suzuki, H.: Microfabricated electrochemical sensing devices. *Lab on a Chip*, 20, 1358-1389, 2020

A01-2（計画班 重藤） 計8件（査読有8件、査読無0件）

1. Yasuda, M., Takeshita, N., and \*Shigeto, S.: Inhomogeneous molecular distributions and cytochrome types and redox states in fungal cells revealed by Raman hyperspectral imaging using multivariate curve resolution–alternating least squares. *Analytical Chemistry*, 91, 12501-12508, 2019（班間共著）
2. Horie, H., Sasaki, M., Yoshikawa, Y., Toyofuku, M., and \*Shigeto, S.: Raman spectroscopic signatures of carotenoids and polyenes enable label-free visualization of microbial distributions within pink biofilms. *Scientific Reports*, 10, 7704, 2020（班間共著）
3. Yasuda, M., Takeshita, N., and \*Shigeto, S.: Inhomogeneous molecular distributions and cytochrome types and redox states in fungal cells revealed by Raman hyperspectral imaging using multivariate curve resolution–alternating least squares. *Analytical Chemistry*, 91, 12501-12508, 2019

A01-3（計画班 野村） 計19件（査読有19件、査読無0件）

1. Nagakubo, T., Tahara, Y. O., Miyata, M., \*Nomura, N., \*Toyofuku, M.: Mycolic acid-containing bacteria trigger distinct types of membrane vesicles through different routes. *iScience*, 24, 102015, 2021
2. Kikuchi, Y., Obana, N., Toyofuku, M., Kodera, N., Soma, T., Ando, T., Fukumori, Y., \*Nomura, N., \*Taoka, A.: Diversity of physical properties of bacterial extracellular membrane vesicles revealed through atomic force microscopy phase imaging. *Nanoscale*, 12, 7950-7959, 2020
3. \*Kunoh, T., Morinaga, K., Sugimoto, S., Miyazaki, S., Toyofuku, M., Iwasaki, K., \*Nomura, N., \*Utada, A. S.: Polyfunctional nanofibril appendages mediate attachment, filamentation, and filament adaptability in *Leptothrix cholodnii*. *ACS Nano*, 14, 5288-5297, 2019

A01-4（計画班 中井） 計13件（査読有12件、査読無1件）

1. \*Kusada, H., Morinaga, K., \*Tamaki, H.: Identification of bile salt hydrolase and bile salt resistance in a probiotic bacterium *Lactobacillus gasseri* JCM1131<sup>T</sup>. *Microorganisms*, 9, 1011, 2021
2. Sakamoto, S., . . . , Kusada, H., . . . , Nomura, N., . . . , \*Tamaki, H.: *Koleobacter methoxysyntrophicus* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic bacterium isolated from deep subsurface oil field and proposal of *Koleobacteraceae* fam. nov. and *Koleobacterales* ord. nov. within the class *Clostridia* of the phylum *Firmicutes*. *Systematic and Applied Microbiology*, 44, 126154, 2021（班間共著）
3. \*Nakai, R., Naganuma, T., Tazato, N., Morohoshi, S., Koide, T.: Cell plasticity and genomic structure of a novel filterable *Rhizobiales* bacterium that belongs to a widely distributed lineage. *Microorganisms*, 8, 1373, 2020

A01-5（計画班 跡見） 計27件（査読有27件、査読無4件）

1. Mori, Y., Kawamura, H., Sato, T., Fujita, T., Nagata, R., Fujihashi, M., Miki, K., \*Atomi, H.: Identification and enzymatic analysis of an archaeal ATP-dependent serine kinase from the

- hyperthermophilic archaeon *Staphylothermus marinus*. *Journal of Bacteriology*, (in press), 2021
- Pereira, G. V., . . . , Atomi, H., . . . , \*Cann, I.: Degradation of complex arabinoxylans by human colonic Bacteroidetes. *Nature Communications*, **12**, 459, 2021
  - \*Murray, A. E., . . . , Nunoura, T., . . . , \*Hedlund, B. P., \*Reysenbach, A.: Roadmap for naming uncultivated Archaea and Bacteria. *Nature Microbiology*, **5**, 987-994, 2020
  - Jin, J-Q., Hachisuka, S-I., Sato, T., Fujiwara, T., \*Atomi, H.: Identification of a structurally novel lipoyl synthase in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakarensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, **86**, e01359-20, 2020 SpotLight Report
  - Zheng, R-C., Lu, X-F., Tomita, H., Hachisuka, S-I., Zheng, Y-G., \*Atomi, H.: TK1211 encodes an amino acid racemase towards leucine and methionine in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakarensis*. *Journal of Bacteriology*, **203**, e00617-20, 2020

A01-6 (計画班 大西) 計 13 件 (査読有 13 件、査読無 0 件)

- Kawai, S., Sugaya, Y., Hagihara, R., Tomita, H., \*Katsuyama, Y., Ohnishi, Y.: Complete biosynthetic pathway of alazopeptin, a tripeptide consisting of two molecules of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine and one molecule of alanine. *Angewandte Chemie-International Edition*, **60**, 10319-10325, 2021
- \*Katsuyama, Y., Sone, K., Harada, A., Kawai, S., Urano, N., Adachi, N., Moriya, T., Kawasaki, M., Shin-ya, K., \*Senda, T., Ohnishi, Y.: Structural and functional analyses of the tridomain-nonribosomal peptide synthetase FmoA3 for 4-methyloxazoline ring formation. *Angewandte Chemie-International Edition*, (in press), 2021
- Du, D., \*Katsuyama, Y., Horiuchi, M., Fushinobu, S., Chen, A., Davis, T., \*Burkart, M., Ohnishi, Y.: Structural basis for selectivity in a highly reducing type II polyketide synthase. *Nature Chemical Biology*, **16**, 776-782, 2020

A02-1 (計画班 野尻) 計 13 件 (査読有 13 件、査読無 0 件)

- Laothamteep, N., Kawano, H., Vejarano, F., Suzuki-Minakuchi, C., Shintani, M., Nojiri, H., \*Pinyakong, O. : Effects of environmental factors and coexisting substrates on PAH degradation and transcriptomic responses of the defined bacterial consortium OPK. *Environmental Pollution*, **277**, 116769, 2021
- Takaki, K., Tahara, Y. O., Nakamichi, N., Hasegawa, Y., Shintani, M., Ohkuma, M., Miyata, M., Futamata, H., \*Tashiro, Y.: Multilamellar and Multivesicular Outer Membrane Vesicles Produced by a *Buttiauxella agrestis tolB* Mutant. *Applied and Environmental Microbiology*, **86**, e01131-20, 2020 (班間共著)
- Maejima, Y., Iino, T., Muraguchi, Y., Fukuda, K., Ohkuma, M., Suzuki, T., Moriuchi, R., Dohra, H., Kimbara, K., \*Shintani, M.: *Chryseotalea sanarue* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Cytophagaceae*, isolated from a brackish lake in Hamamatsu Japan. *Current Microbiology*, **77**, 306-312, 2020 (班間共著)

A02-2 (計画班 高谷) 計 19 件 (査読有 16 件、査読無 3 件)

- Nag, A., . . . , Katsuyama, Y., Kondo, A., Ogino, C., Takaya, N., \*Kaneko, T., \*Ohnishi, Y.: Ultrahigh thermoresistant lightweight bioplastics developed from fermentation products of cellulosic feedstock. *Advanced Sustainable Systems*, **5**, 2000193, 2021 (班間共著)
- Fukuda, S., Yamamoto, R., Yanagisawa, N., Takaya, N., Sato, Y., Riquelme, M., \*Takeshita, N.: Trade-off between plasticity and velocity in mycelial growth. *mBio*, **12**, e03196-20, 2021
- Masuo, S., Tsuda, Y., Namai, T., Minakawa, H., Shigemoto, R., \*Takaya, N.: Enzymatic cascade in *Pseudomonas* that produces pyrazine from  $\alpha$ -amino acids. *Chembiochem*, **21**, 353-359, 2020
- Kanazawa, H., Ozaki, S., Doi, Y., Masuo, S., \*Takaya, N.: Symbiotic riboflavin degradation by *Microbacterium* and *Nocardioides* bacteria. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **84**, 1056-1061, 2020

A02-3 (計画班 松井) 計 3 件 (査読有 3 件、査読無 0 件)

- Matsui, M., \*Iwasaki, W.: Graph splitting: a graph-based approach for superfamily-scale phylogenetic tree reconstruction. *Systematic Biology*, **69**, 265-279, 2019

A02-4 (計画班 大熊) 計 50 件 (査読有 50 件、査読無 0 件)

1. Shi, W., . . . , Ohkuma, M., . . . \*Wu, L., \*Ma, J.: gcType: a high-quality type strain genome database for microbial phylogenetic and functional research. *Nucleic Acids Research*, **49**, D694-D705, 2021
2. \*Bourguignon, T., \*Kinjo, Y., Villa-Martín, P., Coleman, N. V., Tang, Q., Arab, D. A., Wang, Z., Tokuda, G., Hongoh, Y., Ohkuma, M., Ho, S. Y. W., Pigolotti, S., \*Lo, N.: Increased mutation rate is linked to genome reduction in prokaryotes. *Current Biology*, **30**, 3848-3855, 2020 (班間共著)
3. Takeuchi, M., Kuwahara, H., Murakami, T., Kajitani, R., Toyoda, A., Itoh, T., Ohkuma, M., Hongoh, Y.: Parallel reductive genome evolution in *Desulfovibrio ectosymbionts* independently acquired by *Trichonympha protists* in the termite gut. *ISME Journal*, **14**, 2288-2301, 2020 (班間共著)
4. Nishimura, Y., Otagiri, M., Yuki, M., Shimizu, M., Inoue, J., Moriya, S., Ohkuma, M.: Division of functional roles for termite gut protists revealed by single-cell transcriptomes. *ISME Journal*, **14**, 2449-2460, 2020

公募研究 計 31 件 (査読有 31 件、査読無 0 件)

1. (A01 公) Guo, Y., Takashima, Y., Sato, Y., Narisawa, K., Ohta, H., Nishizawa, T.: *Mycoavidus* sp. Strain B2-EB: Comparative genomics reveals minimal genomic features required by a cultivable *Burkholderiaceae*-related endofungal bacterium. *Applied Environmental Microbiology*, **86**, e01018-20, 2020
2. (A01 公) Kim, H., Kubori, T., Yamazaki, K., Kwak, M.-J., Park, S.-Y., Nagai, H., Vogel, J. P., Oh, B.-H.: Structural basis for effector protein recognition by the Dot/Icm Type IVB coupling protein complex. *Nature Communications*, **11**, 2623, 2020
3. (A01 公) Kitao, T., Taguchi, K., Seto, S., Arasaki, K., Ando, H., \*Nagai, H., \*Kubori, T.: *Legionella* manipulates non-canonical snare pairing using a bacterial deubiquitinase, *Cell Reports*, **32**, 108107, 2020
4. (A01 公) Shimamori, Y., 外 5 名, Nagai, H., \*Takeda, S., \*Ando, H.: Staphylococcal phage in combination with *Staphylococcus epidermidis* as a potential treatment for *Staphylococcus aureus*-associated atopic dermatitis and suppressor of phage-resistant mutants. *Viruses*, **13**, 7, 2020
5. (A01 公) Deng, X., Dohmae, N., Kaksonen, A. H., \*Okamoto, A.: Biogenic iron sulfide nanoparticles to enable extracellular electron uptake in sulfate-reducing bacteria. *Angewandte Chemie-International Edition*, **132**, 6051-6055, 2020
6. (A01 公) Naradasu, D., Guionet, A., Miran, W., \*Okamoto, A.: Microbial current production from *Streptococcus mutans* correlates with biofilm metabolic activity. *Biosensors and Bioelectronics*, **162**, 112236, 2020
7. (A01 公) \*Maeda, T., Iwasawa, J., Kotani, H., Sakata, N., Kawada, M., Horinouchi, T., Sakai, A., Tanabe, K., \*Furusawa, C.: High-throughput laboratory evolution reveals evolutionary constraints in *Escherichia coli*. *Nature Communications*, **11**, 5970, 2020
8. (A02 公) Chiba, Y., Tomaru, Y., Shimabukuro, H., Kimura, K., Hirai, M., Takaki, Y., Hagiwara, D., Nunoura, T., \*Urayama, S.: Viral RNA genomes identified from marine macroalgae and a diatom. *Microbes & Environment*, **35**, ME20016, 2020 (班間共著)
9. (A02 公) \*Urayama, S., Doi, N., Kondo, F., Chiba, Y., Takaki, Y., Hirai, M., Minegishi, Y., Hagiwara, D., Nunoura, T.: Diverged and active partitivirus in lichen. *Frontiers in Microbiology*, **11**, 561344, 2020 (班間共著)
10. (A02 公) Nomoto, D., Tsunoda, T., \*Shigemori, H.: Effects of clovamide and its related compounds on the aggregations of amyloid polypeptides. *Journal of Natural Medicines*, **75**, 299-307, 2021
11. (A02 公) \*Hosoda, S., Fukunaga, T., \*Hamada, M.: Umibato: estimation of time-varying microbial interaction using continuous-time regression hidden Markov model. *Bioinformatics*, (in press), 2021
12. (A02 公) Gan, P., Hiroshima, R., Tsushima, A., Masuda, S., Shibata, A., . . . , \*Shirasu, K.: Telomeres and a repeat-rich chromosome encode effector gene clusters in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi. *Environmental Microbiology*, (in press), 2021

<学会発表> 計 375 件（一般講演 232 件、招待・基調講演 143 件）主な招待・基調講演のみを記す

1. 中井亮佑、草田裕之、玉木秀幸、培養アプローチで迫る稀少微生物たちの実体、日本農芸化学会 2021 年度大会、オンライン、2021/3/20
2. 中井亮佑、極地微生物ハンティングのこれまでとこれから、極限環境生物学会 第 21 回シンポジウム、オンライン、2020/11/1
3. 玉木秀幸、未知の微生物を“培養”して新たな生物機能を探る、BioJapan2019 バイオインダストリー大賞・奨励賞受賞講演会、横浜、2019/10/9
4. Shigeto, S. and Shogo Toda "Infrared electroabsorption spectroscopy of nanoconfined water" 2019/7/12, 10th International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy, Auckland, New Zealand
5. Nomura N. "Biofilms and membrane vesicles" 2019/10/27, ASBA Asian association of synthetic biology, Chengdu, China
6. Nomura N. "Microbial Control Ver. 3.0" 2019/11/11, The 31st Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference, Phuket, Thailand
7. Atomi, H. "Studies on coenzyme biosynthesis~a new lipoyl synthase~" Molecular Biology of Archaea 7, 2020/10/8 (on-line)
8. Atomi, H. "Unique metabolism of the Archaea" The 10th International Symposium of Advanced Energy Science, 2019/9/4, Institute of Advanced Energy, Kyoto, Japan
9. Atomi, H. "The unique metabolism in Archaea" 2019/11/19, 2019 International Congress on Metabolic Sciences (ICMS2019), Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, China
10. Ohnishi, Y., Kaneko, T., Ogino, C., Takaya, N., and Matsumi, N. "Development of high-performance polybenzimidazole bioplastics from kraft pulp" 2019/9/10, 1st Japan-Germany-Switzerland Workshop for Enzyme Technology and Bioprocess Development, Toyama, Japan
11. Nojiri, H. "Pseudomonas resinovorans CA10dm4 shows insensitivity to various plasmids: Its role in the host genome evolution" 2019/11/13, International Congress of the Malaysian Society for Microbiology 2019
12. Hayashi, H. "Field Research Challenging for the Sustainable Development in the 21st Century" The 6th International Conference on Agricultural and Biological Sciences (ABS 2020), 2020/8/24, ABS2020 Organizing committee (on-line)
13. Ohkuma, M. "Single-cell genomics of termite-gut symbionts" 2019/12/2, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST) Mini-Symposium "Ecology and Evolution of Termite Gut Microbes", Onnason, Japan
14. Kato, S. "Microbial ecology of hydrothermally-inactive sulfide deposits in deep-sea hydrothermal fields" 2019/11/20, 4th InterRidge Theoretical Institute, Banyuls-sur-Mer, France

<産業財産権> 計 20 件

1. (A01-1) 佐々文洋、武居修、茂木一「操作装置及び操作方法」特願 2020-102019、令和 2 年 6 月 12 日
2. (A01-3) 八幡穰、八幡志央美、岡野千草、野村暢彦「補正パラメータ設定方法及びデータ補正方法」特願 2021-019344、令和 3 年 2 月 9 日
3. (A01-3) 八幡穰、八幡志央美、平山智弘、野村暢彦、森浩二、芹田龍郎、高久洋暁「細胞の表現型と自家蛍光の対応データ作成方法及びデータ使用方法」特願 2021-029169、令和 3 年 2 月 25 日
4. (A01-3) 豊福雅典、野村暢彦、臼倉雄紀「対象物質が封入された膜小胞の製造方法」特願 2020-188606、令和 2 年 11 月 12 日
5. (A01-3) 野村暢彦、ウタダ アンドリュウ、シンイチ、ダウイン バク ヴヤン「洗浄および防汚組成物並びにバイオフィルムの除去および形成抑制用組成物」特願 2019-184173、令和元年 10 月 4 日
6. (A01-4) 草田裕之、玉木秀幸、有田正規「耐熱性胆汁酸塩加水分解酵素および経口組成物」特願 2020-143314、令和 2 年 8 月 27 日
7. (A01-5, A02 公) 出口茂、布浦拓郎、浦山俊一「二本鎖 RNA の断片化方法およびその利用」出願番

号：15/767832，登録番号：10894981，登録日 2021/1/19 (US patent)

8. (A01 公) 岡本章玄「検出装置、及び、データ収集方法」PCT/JP2020/19026、令和 2 年 5 月 12 日

#### <ホームページ> 計 1 件

領域ホームページ (<https://postkoch.jp>)

#### <主催シンポジウム> 計 2 件

キックオフシンポジウム (令和元年 9 月 26 日)

第一回公開シンポジウム「様々な光で微生物を見る」(令和 2 年 12 月 18 日)

#### <受賞> 計 24 件 (学会賞等 5 件、学会等奨励賞 5 件、発表賞等 14 件)

1. (A01-1) 佐々文洋、文部科学大臣表彰若手科学者賞 (令和 3 年 4 月) (文部科学省)「化学/生物学分析の為に BioMEMS と応用ロボット研究」
2. (A01-6) 大西康夫、大村賞「放線菌の形態分化制御と二次代謝産物生合成に関する研究」(令和 2 年 9 月) (日本放線菌学会)
3. (A01-6) 大西康夫、長瀬研究振興賞 (令和 2 年 4 月) (長瀬科学技術振興財団)「希少放線菌の孢子嚢を構成する新規生体成分およびその合成と分解に関わる酵素に関する研究」
4. (A01-3) 山本達也、野村暢彦、豊福雅典、第 18 回オレオサイエンス賞 (令和元年 9 月) (日本油化学会)「細菌が放出するベシクルの新奇形成機構の発見」
5. (A01 公) 岡本章玄、The Catalyst Awards (令和 2 年 10 月) (全米医学アカデミー (NAM)「Healthy Longevity Grand Challenge (HLGC)」)
6. 李哲揆 第 38 回土壤肥料学会奨励賞 (令和 2 年 9 月) (日本土壤肥料学会)「土壌中の有機物由来の炭素循環と、有機物施用による植物病害の抑止に関する微生物の研究」
7. 豊福雅典 第 1 回野本賞 (令和 2 年 6 月) (日本微生物学連盟)「膜小胞を介した細菌間コミュニケーションの研究」
8. 手塚武揚 浜田賞 (研究奨励賞) (令和元年 9 月) (日本放線菌学会)「孢子嚢を形成する希少放線菌の形態分化に関する分子遺伝学的研究」
9. 加藤真悟 研究奨励賞 (令和元年 11 月) (極限環境生物学会)「極限環境下の「鉄」にまつわる微生物生態学」
10. その他、発表賞等 (M&E 論文賞、2020 年度日本農芸化学学会大会、2021 年度同大会、極限環境生物学会、日本共生生物学会、日本農芸化学学会関東支部、日本農芸化学学会大会トピックス賞)

#### <一般向けのアウトリーチ活動>

1. 広報誌の発刊「ポストコッホニュースレター 第 1~4 号」
2. 領域パンフレットの作成「超地球生命体を解き明かす ポストコッホ機能生態学 (100 部、令和元年 11 月 26 日)、同増刷 (100 部、令和 2 年 3 月 6 日)」
3. 学会等ブース展示 (極限環境生物学会、ゲノム微生物学会、計 3 回)
4. 日本農芸化学学会大会における共催シンポジウム (2 件)

#### 一般向け講演会・セミナー 計 12 件

1. (A02-1)「進化学に生きる」令和 3 年 3 月 7 日 (松井求) 最先端科学プログラム (早稲田塾主催)
2. (A02-1)「環境は持続可能か? ~微生物による環境浄化の開発~」令和元年 9 月 7 日 (新谷政己) 創立 70 周年記念 静岡大学・読売新聞連続市民講座 2019 令和を生きる~新時代への展望~ (静岡大学・読売新聞連続市民講座主催)
3. (総括班)「微生物の個・集団・共生が支える持続可能な社会」公開シンポジウム (共催) 令和 2 年 2 月 5 日

#### 小・中・高校生向け授業・実験・サイエンスカフェ 計 11 件

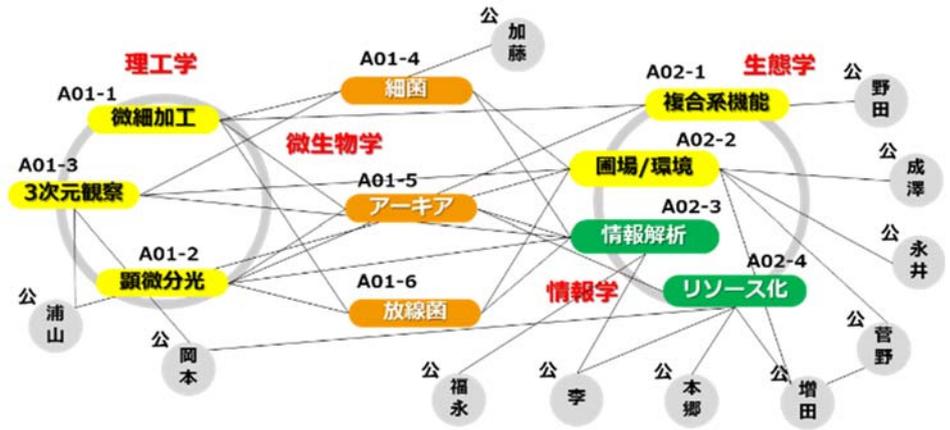
1. (A02-1)「環境の微生物研究への招待」令和元年 8 月 6 日 東京大学生物生産工学研究センター
2. (A01-1)「ポストコッホ微生物学のすすめ」令和元年 10 月 24 日、関西学院高等部
3. その他、フェリス女学院高 (A01-6)、静岡県立藤枝東高校 (A01-6)、富山高 (A02-1)、尾道北高校 (A01 公)、筑波大附駒場高校 (A02-2)、竜ヶ崎第一高校 (A02-2)、筑波大附坂戸高校 (A02 公)

## 7 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

研究開発当初に設定した領域の研究組織と機能分担を本ページ最下段に示した。領域代表のリーダーシップと若手研究者の自発的な取り組みによって、当初計画に従い領域活動が進められている。さらに、前項および項目8に示した2年間の取り組みを通じて研究項目間の連携が加速し、当初の総括班を頂点とした並列関係を越え、現在では複雑かつ有機的な研究者ネットワークとなっている(下図)。ここには計画班だけでなく、公募班(計16班)とは共同研究が11件開始しており、領域全体の連携は極めて良好である。

主な連携の一つは、工学分野(A01-1~3)を中心としたポストコッホ技術開発の研究者クラスターを成している。ここでは、微細加工技術によるハイスループット微生物培養用のマイクロデバイスを用いた新たな分離・培養(A01-1)と、最新のラマン・蛍光分光を用いた複合系中の微生物の識別・分離(A02-2、3)技術の構築を行っており、この技術を広範な微生物(A01-4~6他)に適用するための共同研究体制が組み立てられている。



もう一つの主な連携は、モデル圃場と情報解析を中心とした研究者クラスターを成す。ここでは、モデル圃場の微生物叢・環境データ・土壌/作物試料の採取と配布、大規模データの取得と共用データベースの作成、生態・情報関連の技術相談などを行っており、これに関連した共同研究が多数進められている。特に、多くの公募研究班員が土壌試料の採取と分与に関わっていることは、領域が一致団結してモデル圃場のデータを取得するために貢献している。

連携における課題：領域発足後半年後に始まったコロナ禍の影響により、国際活動支援に大きな影響があった。領域としてはいち早く Zoom を用いたオンライン会議システムを導入し連携体制の維持に努めたが、研究開始当初に計画していた国際シンポジウムや海外派遣・受入れの取り組みは困難となった。この状況は関連する研究拠点も同様であり、海外との交流を維持するために、これらの研究拠点(筑波大

MiCS、東大CRIIM、JST/ERATO 研究(2件)との連携により、少ない数で多くの交流の機会を与える共催シンポジウムを行った。今後の国際支援に関する連携については、優れたアイデアが必要である。

| 超地球生命体を解き明かす<br>ポストコッホ生態学  |  |
|--|--|
| <b>総括班 X00</b>   |  |
| 構成員のゲノム解析支援  |  |
| 研究データの共用化の推進   |  |
| 生理試験データ<br>(Bergey's manual)の電子化・配布<br>モデル圃場の運営<br>(環境コンテキスト、作物データ、<br>メタゲノム、メタボローム支援) |  |
| 若手育成・情報発信  |  |
| 理工学・情報学若手研究者<br>への啓蒙など   |  |
| <b>国際活動支援</b>  |  |
| 国際ネットワーク<br>海外機関との連携<br>情報発信、研究者招聘   |  |

| 研究項目A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓                          |   |
|--|---|
| 計画研究   | 公募研究  |
| 1. ポストコッホ微生物の分離・培養の技術革新(佐々)<br>マイクロ培養アレイ、ハイスループット化、細菌      | (例)<br>・分離培養システム<br>マイクロデバイス<br>ソーティング、透析培養 |
| 2. 分子分光プロファイリングによるポストコッホ生態物理化学(重藤)<br>顕微ラマン、一細胞イメージング、電場応答 | ・分離しないで解析する<br>分光顕微鏡の革新<br>非破壊解析、画像処理       |
| 3. 複合生物系を形作るポストコッホ微生物(野村)<br>反射顕微鏡、自家蛍光活用、バイオフィルム          | ・種多様性<br>新種、難培養性微生物<br>極限環境微生物              |
| 4. 難培養性のポストコッホ微生物の可培養化(中井)<br>難培養性微生物、環境微生物、系統分類、新種の記載     | ・生理機能の多様性<br>代謝産物、構造物質、<br>人為起源物質           |
| 5. ポストコッホ・アーキア学:第3の生命の姿(跡見)<br>アーキア・エネルギー代謝・極限環境           |   |
| 6. ポストコッホ生態系における希少放線菌の種と機能(大西)<br>放線菌・二次代謝・土壌              |   |

| 研究項目A02 機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系の創出                        |   |
|---|---|
| 計画研究  | 公募研究  |
| 1. 微生物相互作用が解き明かすポストコッホ微生物機能(野尻)<br>機能発現制御、種の変遷、機能           | (例)<br>・ポストコッホ複合微生物<br>共生メカニズム、種分化<br>動植物フローラ |
| 2. ポストコッホ生態系モデルの構築(高谷)<br>モデル圃場・環境コンテキスト・メタゲノム・メタボローム       | ・関連データベース<br>との統合<br>機能ontology               |
| 3. 機能インフォマティクスが解明するポストコッホ生態系(松井)<br>相関解析、機能情報アーカイブ化、代謝パスウェイ |   |
| 4. ポストコッホ微生物資源の基盤整備(大熊)<br>バイオリソース、培養特性、微生物分離、新種の記載         | ・ポストコッホ系統保存                                   |

## 8 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和3年3月末現在で39歳以下。研究協力者やポストク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### <これまでの取組み>

全体的な方針として本領域では、「若手が自由に研究を立案・推進できる環境を維持する」ことを最優先してきた。中堅研究者が若手研究者の発想と行動力を制限しないよう班員間で強いコンセンサスを得ている点が本領域の特徴であろう。また、初年度に若手研究者に研究費を多く配分しブレイクスルーを導く高価な機器の導入を図った。

若手研究者の自発的な取り組みによって「若手異分野交流会」（デバイス、メタゲノム、ウイルス分野等）4件、各種勉強会4回が開催された。昨年度からは公募班員も混ざって行われたことは、本領域が風通しの良い研究環境を提供していることを示しており、大変喜ばしいことであった。総括班が中心となり、総括班会議と領域会議を開催し（年1回）、構成員一同が集結し領域の運営方針を見直す機会をつくとともに、シンポジウム（「微生物の個・集団・共生が支える持続可能な社会」等）4件、モデル圃場見学会、理研バイオリソース見学会、ロベルト・コッホ没後110年記念の黙祷式などを行った。これらは、上記の「若手異分野交流会」とともに構成員間の交流に大きく貢献した。

他の拠点との連携により若手研究者の視野の拡大と領域外との連携を促した。微生物関連研究センター（東大CRIIM、筑波大MiCS）や微生物関連の大型プロジェクト（JST/ERATO 野村集団微生物制御、JST/ERATO 深津共生進化機構）との共催セミナー・シンポジウムを開催（R3 計画中を含め10件）した。

#### 若手セミナーの開催

第4回「高密度培養デバイスの現状とこれから」R3.1.20：オンライン（講師：佐々、九州大学）

第3回「内なるRNAウイルスの生き様を見よ」R2.12.3：筑波大学・オンラインのハイブリッド形式（講師：浦山、筑波大学；金子、京都大学；森山、東京農工大；宮下、東北大学）

第2回「メタゲノム解析勉強会」R1.12.13：筑波大学（講師：竹田・篠崎・久保、サイキンソー(株)）

第1回「マイクロ培養アレイデモ・講習会」R1.9.27：筑波大学（講師：佐々、九州大学）

### <上記取組みの成果>

上記の取り組みによって、若手を中心とする異分野融合研究が新たに88件開始された。また、以下の成果が得られた。いずれの関連分野の中でも非常に優れた成果である。また、本領域研究成果の社会実装に向けて「微生物エコテクノロジー社会連携講座」本講座（東大・農 vs ダイキン(株)）を設置し、准教授、講師、助教各1名を新規採用した。

#### 受賞

佐々文洋（A01-1）：文部科学大臣表彰若手科学者賞（2021）：その他、各種奨励賞5件（項目6参照）

## 9 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### <研究費の使用状況・効果的使用の工夫>

#### (1) 各班での使用状況

物品費（各種解析に用いる備品、消耗品）、人件費・謝金（研究員等の雇用）、その他（委託解析等）が主な使途であり概ね当初計画通りに使用している。初年度に若手研究者に研究費を多く配分しブレイクスルーを導く高価な機器の導入を図った。コロナ禍の中、打ち合わせや成果発表などがオンライン化されたことから、旅費については計画を大きく下回った傾向がある。一方、Zoomなどのオンライン化により連携が容易となり、そこから多くのアイデアが生まれ、それらを検証するための研究費として積極的に使用された。その成果として、項目7に示した研究組織の密なネットワークが生まれた。

#### (2) 総括班による領域の活動と運営

領域事務員を雇用し領域の事務業務を、ヘッドクォーター（HQ）博士研究員を配置し研究総括補佐と領域研究の運営を効率化した。領域ホームページ、広報誌の発刊、学会等での展示、セミナー・シンポジウム・勉強会の開催にあたり講師への旅費・謝金を活用した。

総括班による実験試料・データの提供のための保管庫等を導入した（以下参照）。A02-2班に土壌化学分析機器一式を導入し、環境コンテキストの取得のための共用機器とした。実際の試料採取と班員への試料提供に用いる消耗品や郵送費を活用した。

#### (3) 新型コロナウイルス対応

シンポジウム等オンライン化への対応のために、オンライン会議ツール（Zoom、SpatialChat）の契約、事務局に設置するカメラ・マイク等の購入を行った。

### <設備・装置の共用状況>

以下に示すように、モデル圃場の運営、領域が共有する土壌・作物試料および情報解析の基盤となるビッグデータの作成と配布に関わる装置と設備を共用し、研究費の効果的使用に努めた。高価な分光光学機器は、最終的に構築し共有するポストコッホ型の微生物分離・解析装置の基盤となる。

機器名：圃場保管庫・作業用軽トラック等(A02-2・筑波大学、274万円)

使途：モデル圃場への物資の運搬および収穫物の搬送、排出、保管と併せ、収穫物の測定、撮影が効率的にできるようになり、研究を円滑に進められるようになった。

共用状況：領域が共有する圃場の運営とデータの取得だけでなく、構成員の圃場への訪問と試料取得の際の作業ベースとして貢献している。

機器名：波長可変ナノ秒レーザー（A01-2・関西学院大学、1,280万円）

使途：様々な波長でラマン散乱および自家蛍光を励起し、微生物の分子スペクトルデータを高次元化するための実験において光源として使用する。

共用状況：現在、この機器を用いた新しい高機能顕微分光装置を構築中である。完成後は、A02-4班との共同研究におけるアーキア試料を含む多くの微生物種の顕微ラマン分光解析に使用予定である。

機器名：DNA等数値解析用大規模計算サーバ（A02-3松井・東京大学、954万円）

使途：領域が取得する微生物・環境コンテキストの大規模データを用いてA02-3班がネットワーク解析・可視化するために利用する。構成員の個別課題における機械学習等の高度な情報解析に利用する。

共用状況：解析結果は、領域が共有する情報プラットフォームとして提供できる。個別研究課題（微生物ターゲットを絞った菌叢解析（A01-5、A01-6）、分光光学ビッグデータ解析（A01-2、A01-3、A02-1）、圃場生態系の測定微生物の挙動解析（A02-2）等）に活用される。

機器名：微生物DNAデータ解析・公開用サーバ（A02-3・東京大学、412万円）

使途：圃場から得られたデータ（NGSデータ、ドローン画像、環境コンテキストの各情報）および既知の微生物関連文献情報を集積している。Bac2Featureデータベースの開発・公開に使用している。

共用状況：このデータベースは領域に広く公開し全構成員の情報プラットフォームとなる。A01-4、A01-5、A01-6、A02-2等による新規微生物の探索を強力に支援する。

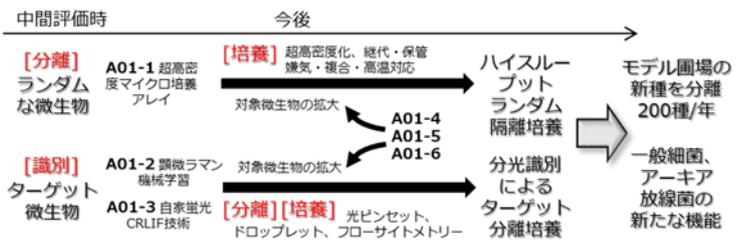
## 10 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「革新的・創造的な学術研究の発展」の観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後公募する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

### <研究領域の推進方策>

#### 研究項目 A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓

中間評価時まで構築した3つのポストコッホ技術は、微生物のハイスループット識別・分離・培養を可能とし、実際に、環境試料から新属細菌を分離できた。今後は、これらを組み合わせ、自在に微生物を分離可能なポストコッホ微生物分離システムへと組み上げる。これは1台で万能なシステムではなく、解析目的と標的微生物群に合わせてチューンするものとなる計画である。開発する2本柱は、「微生物のハイスループットランダム隔離培養」、「微生物の分光識別によるターゲット分離培養」である。計画当初は200種/年以上の新種候補微生物の分離培養を目標としていた。今後は、新種候補の推定基準を上方修正し(16S rRNA配列相同性が98%以下)、分類上の新規性の確度が高い候補株の分離培養を目指す。



##### (1) 微生物のハイスループットランダム隔離培養

マイクロ培養アレイの利点は、試料中のランダムな一細胞を微小ウェル中に隔離(分離)して培養可能なこと、この隔離培養のスループットが高いことである。これまでに、モデル圃場の細菌を分離培養可能となったので、今後は、圃場微生物を本格的に分離培養する(A01-3~6、A02-1,2,4)。また、更なる効率化を目指した新たなアレイも開発し(A02-1)利用する。計画している改良点は、i) 超高密度化(現在10<sup>3</sup>/デバイス、目標10<sup>5</sup>/デバイス)、ii) 嫌気系・複合共培養系・高温への挑戦、iii) マイクロレプリカ法の開発と継代培養、iv) 保存・保管(A02-4と共同)である。

##### (2) 微生物の分光識別によるターゲット分離培養

独自の顕微分光法の利点は、異種あるいは生理状態が異なる同種微生物を一細胞レベルで識別し、それらの生理機能を培養せずに非破壊分析できる点である。これまでに、独自の顕微ラマン分光と自家蛍光CRLIF(A01-2, 3)を相補的に開発しこのための技術を整備した。今後は、スペクトルデータの高次元化とレファレンス微生物の拡大によって、土壌等の難易度の高い環境試料の微生物解析に応用する。また、特定の化合物・機能を有する微生物を、分光学的プロファイルを指標として識別し一細胞分離(光ピンセット、ドロップレット、フローサイトメトリー、マイクロ培養アレイ等を利用)する技術を確認する。これは、生態系の理解だけでなく、新たな有用物質の探索や高生産の新技术へと波及する。

##### (3) 微生物の培養化と機能解明

これまでに領域が分離した微生物の多くは従来技術によって得られたものである。既に、上記のポストコッホ技術を微生物群(一般細菌、アーキア、放線菌)にあわせてチューニングし、モデル圃場の未培養微生物の分離培養と機能解明を開始しているが、この研究を本格化させる。新たな一般細菌、アーキア、放線菌の分離と同定、それらのゲノム解析・転写解析、新規代謝機構・形態分化の分子機構の解明、環境応答の制御機構・二次代謝産物の単離と生合成機構の解明等が研究課題となる。

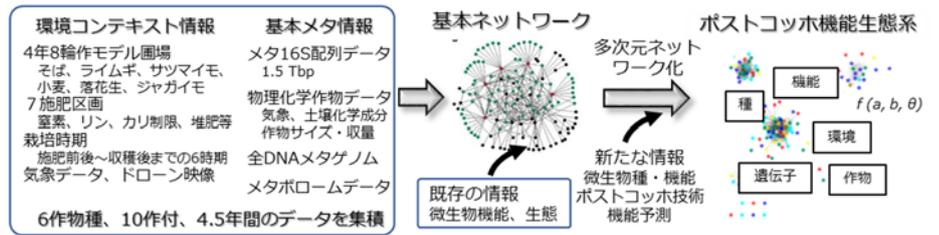
#### 研究項目 A02 機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系の創成

当初計画通り、モデル圃場の微生物-作物-土壌データベースの作成と共起解析によって、メタゲノムに偏重した生態系を高次元の相関ネットワークとして理解することを目指す(ポストコッホ機能生態系)。これに際しては、既存の情報学的手法とともに新たな解析手法も開発・利用する(機能インフォマティクス)。また、生態系を構成する未知・未分離の微生物の機能を推定する手法の開発にも挑戦する。

##### (1) モデル圃場の運営とデータの取得

中間評価時までには順調に進んでおり、計画通り4年8輪作、延べ8作物、6作物種の大規模かつ高再現性を持つ植物-土壌-微生物データ(圃場の微生物叢・環境コンテキスト・ドローン写真等)を取得する(A02-2)。得られるデータを公開されている微生物機能と統合させたデータベース(Bac2Featureデータベース

等)を作成・公開する(A02-3)。土壌・作物試料を領域内の研究と共有することで領域研究を促進させる(総括班)。中間評価時までにはこのために必要なサーバ・手法・公開方法を確立したので、問題なく残りの期間も運用可能である。今後は、領域構成員が取得する微生物の種、ゲノム、機能、相互作用のデータをデータベースに統合する計画である。これらは、その質、緻密度、量が異なる雑多なデータであるので、これをどのようにデータベース化するかは検討すべき課題である。A02-2,3を中心とするメンバーで最適な方法を開発し、汎用化を図る計画である。



(2) ポストコックボ機能生態系モデルの構築

(1)で追加される情報を随時更新し、既存の解析手法を用いて基本的なネットワークモデルを作成する(A02-2, 3)。高度な解析として、独自に開発する逆相関ネットワークによるニッチの俯瞰解析(A02-3)や逆インジグモデルを活用した高精度な相関解析(A02 公募)、Graph splitting法に基づく階層的ネットワーク分析等を取り入れ、最終的なポストコックボ機能生態系モデルとする。得られるネットワークから圃場微生物の機能を予測することは挑戦的な技術課題であり、これにも取り組む。現状では、予め生態学的・微生物学的意義を考慮しながら単純な機能に絞った上で予測計算せざるを得ない。ポストコックボ機能生態系モデルを領域内外で共有し、ヒアリングやセミナーにおける密な議論を通してこの絞り込みを行う。

予測される機能について、ラボ内での実証試験の研究を通して、ポストコックボ生態系における微生物の機能の情報とする。既に、土壌や植物等に由来するビタミン、配糖体、二次代謝産物の微生物代謝(A02-2)や土壌中での遺伝因子の移動(A02-1)を選定し、生態系における機能の研究を進めている。圃場の土壌を用いたポット試験等の実証試験を本格化させ、モデル圃場の生態系の意義の理解に貢献する。

分離した大規模菌株の継代培養については、A01-1, A02-2などがマイクロ培養デバイスのレプリカ作成法を開発しつつある。A02-4とともに保管と管理の方法もあわせて検討する。

**公募研究の役割**

領域の研究を効率化できる分野・技術の研究課題を本年度の公募研究で補充するとともに、さらなる不足分は、領域外の研究者との共同研究によって補う。主な分野は以下の通りである。(1) 理工学分野では、ドロップレット、フローサイトメトリー、一細胞ゲノム解析の専門家を補充し(A01 公募)、共同研究が始まっている。しかし、分光学と微細加工の研究者の参加が不足しており、これを担当するA01-1～3の負担が大きい。当該分野の学会等へ働きかけ、関連研究者の公募と領域外共同研究を募り補充する計画である。(2) 情報学分野では、情報解析の担当がA02-3およびA02 公募(福永)に限られている。作成した第一世代のモデル圃場のデータベースと得られた成果をバイオインフォマティクス学会企画等で宣伝することで、新たな公募研究と領域外共同研究を増やしこの分野を強化したい。(3) 微生物・生態学分野では、計画班が持たないウイルスや菌類等を扱う多様性を公募研究により確保できた。さらなる公募や領域外共同研究によって、多様な代謝・生合成(二次代謝を含む)、植物の微生物共生、複合微生物系を扱う研究を組み入れ、複雑なモデル圃場生態系の機能を一つでも多く解明する。

**<研究推進上の問題点>**

領域研究の推進の上で大きな問題はない。領域の運営上は、国際支援活動についての解決すべき課題がある(詳細は総括班の報告書に示す)。コロナ禍の中、国際シンポジウムや海外派遣・受入れの取り組みが困難となった。同様の状況にある他の微生物関連研究拠点と連携し、少ない数で多くの交流の機会を与える共催シンポジウムを行い、海外との交流を維持する(現在も3件、企画中)。類似の取り組みを通して、若手の育成、国際共同研究の推進を行う。状況が好転したら、領域メンバーの海外での成果発表支援や海外拠点からの研究者の受入れの支援、対面形式での国際シンポジウムの開催を企画する。

## 11 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### 総括班評価者 1

氏名：福田 雅夫

所属：中部大学・応用生物学部・学部長・応用生物化学科・教授

本領域は、生態系の未知の微生物種を解明することをめざし、理工学と微生物学の融合によってポストコッホ型の新たな微生物の分離培養技術を創出するとともに、生態学と情報学を駆使した機能インフォマティクスによって微生物の種と生理機能を基軸とした新たな生態系モデルを創成することをめざしている。さらには地球生態系の構築原理を導く新学問の創出を目指すものである。

A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種の多様性の開拓では、二つの主テーマがあり、その一つである新しい分離培養技術＝ポストコッホ技術の開発と新規微生物の分離においては、優れたマイクロ培養デバイスが開発・改良され（A01-1）、これを活用して難培養性微生物（A01-4）や稀少放線菌（A01-6）、モデル圃場の新規微生物（A02-3）の培養・分離を達成している。また、公募研究においてもマイクロドロップレットや電気培養などを含む新たな分離・培養技術の開発・応用が行われ（A02-1, 公募 A01 青井, 岡本, 前田, 野田）、技術開発が強力に進められていることが示唆される。新規微生物の分離では、これら新技術と従来技術を織り交ぜ、60種の難培養性微生物（A01-4）や800株の稀少放線菌（A01-6）、目レベル以上で新規な稀少微生物（A02-4, 公募 A01 加藤）を含め、合計で3,000株、新種候補340種、新属以上の候補100株を得ている。世界の5%を占める27種の新種の記載を達成したことは評価に値する。新しいポストコッホ技術の本格的活用により、更に大きな成果が生み出されると期待される。もう一つのテーマである一細胞レベルでの非破壊プロファイリング技術では、ラマンスペクトルの応用（A01-2）において一細胞でのプロファイリングを達成し、種の識別や生理機能検出を可能にする技術の実証に成功している。自家蛍光の利用（A01-3）においては、微生物間相互作用の可視化やシグナル化合物に応答する微生物の検出や単離に成功している。いずれの技術も鍵微生物細胞の検出や特定に活用できるレベルに達しつつある。また、ラマンスペクトルの応用（A01-2）ではマイクロ培養デバイスとの融合が進められ、新たな展開がスタートしている。以上の成果から A01 の進捗状況は順調そのものと考えられる。今後の計画で構想している「微生物のハイスループットランダム隔離培養」ならびに「微生物の分光識別によるターゲット分離培養」を実現することは十分に可能だと思われる。

A02 機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系においては、モデル圃場にかかわる微生物情報（微生物叢や微生物機能など）と環境コンテキスト（土壌化学、作付け・施肥、作物、気象等）のデータを収集し、膨大なデータに機能インフォマティクスを適用して高次元相関ネットワークとして把握できる新しいポストコッホ生態学を構築することをめざしている。モデル圃場におけるデータ収集は着実に実施されており、土壌窒素や pH と関連する微生物の解明にも及んでいる（A02-2）。また、マイクロ培養デバイス技術を活用して効率的な新規微生物の分離にも成功している。機能インフォマティクスの開発においては、多項間関係を一気に解析できる手法やニッチ構造を俯瞰できる微生物間相互作用ネットワーク解析手法（A02-3）、微生物叢の時系列定量データ解析手法（公募 A02 福永）を含む高次解析手法が開発された。モデル圃場にかかわるデータから構築されるネットワークモデルにこれら高次解析手法を加えてポストコッホ機能生態系モデルを構築する計画だが、準備は整っている。以上の成果から A02 の進捗状況も順調と考えられる。しかしながら、前人未踏の分野となる生態系モデルからの圃場微生物の機能予測は容易ではないと予想され、今後の計画で「機能の絞り込み」に触れていることは、適切である。また、モデル圃場にかかわるデータに既存の微生物機能を加えたデータベースを公開するとともに、領域内で取得される微生物情報を統合する計画は有益であり、妥当だと思われる。

領域運営においては、A01-1, A01-2, A01-3, A02-2, A02-3, A02-4 等をハブとした連携が優れている。領域内共同研究は80件を越え、合計で170篇に及ぶ学術論文の中には異分野融合による論文も多い。研究連携を推進する代表者のリーダーシップの下、さらに大きな成果を結実させると期待される。採択審査において受けた指摘への対応についても、それぞれに適切に対応している。コロナ禍により国際活動等が抑えられているが、回復への速やかな対応に知恵を絞って頂きたい。

## (総括班評価者による評価、つづき)

### 総括班評価者 2

氏名：五十嵐 圭日子

所属：東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

本研究は2つの研究スキームからなる。研究項目 A01 では、革新的なポストコッホ技術を開発し、従来の手法によっては分離できなかった未解明な微生物を分離する。具体的には、微細加工、MEMS、分光光学、顕微イメージング等の技術を駆使した革新的な微生物の分離・培養・分析の技術の開発研究と、微生物の新たな種及び機能の解明とその多様性の拡大を目指している。研究項目 A02 では、新たなバイオインフォマティクス技術の開発や既存技術の新たなアイデアに基づく活用により、微生物の種・ゲノム・遺伝子・機能・環境の情報を統合させ、ネットワーク解析することで、ポストコッホ型の生態系モデルを創成することを目指している。いずれの計画班も、研究領域が共有する畑作試験圃場あるいはそこから得られる環境・微生物データを活用し領域の全体成果を得るものである。これまでに、以下の成果が得られており、当初計画通り順調に進んでいると言える。

- (1) ポストコッホ技術の要素となるマイクロデバイス、ラマン/蛍光顕微分光による未知微生物の分離・培養・識別の要素技術を確立し、340 株もの新種候補微生物の分離培養に成功した。これは世界における新種記載の 5%に相当する。
- (2) モデル圃場の 5 作物の作付運用と微生物-植物-土壌のデータの取得とネットワーク化を達成した。これは世界初の連作体系での微生物叢遷移の解析である。

特に(2)では、情報基盤の整備が順調に進み、圃場生態系の情報解析につながった結果ユニークな成果も得られ始めている。研究開発当初に指摘された「得られる生態学的視点や波及効果が圃場生態系に限定的とならないための取組み」として、解析対象となる微生物を一般細菌、アーキア、放線菌だけでなく、菌類、植物共生系、ウイルスへと広げたこと、圃場とは異なる生態系にも微生物の探索源を広げたことから、今後、普遍的な成果を得ることが期待される。また、公共データベースから得られる生態系データと圃場生態系の比較を行う情報学研究も始まっており、この成否が本領域の普遍化のカギを握ると思われるので、更なる強化が望まれる。

得られた成果の論文公表数は本分野では十分あり、ハイレベルな雑誌への掲載もあり評価に値する。理工学、微生物学、生態学、情報学からなる領域研究の異分野融合研究も実質的なものとなっており、全ての計画研究が一丸となっている点は高く評価できる。微細加工・情報学を担当する若手研究者は、多くの領域内共同研究のハブとして欠かせない存在となり活躍している。実際、関連学会等での受賞やキャリアアップも特に若手研究者で多く見られ、領域の若手育成の取組みが高く評価される。残された期間で、それぞれの分野と微生物・生態学を融合させた独自の学問領域の創成に貢献することが期待される。

今後の研究計画として、ポストコッホ技術による微生物分離培養システムとポストコッホ生態系モデルの構築をあげている。後者については、得られるネットワークから圃場微生物の機能を予測する手法および、その機能をラボ内で実証試験する対象となる微生物機能の具体性が不十分である。領域内外での密な議論を通してこの絞り込みを行うとあるが、その際に、圃場生態系を制御する鍵となる微生物群の機能を調べることで生態系の全貌を理解するために重要である。できるだけ短期間でこの計画を立て、研究期間後半で実証試験を達成することが望まれる。

総括班による研究支援体制としては、試験圃場の運営、土壌試料や各種データの共有が進み共同研究を多く生んでおり風通しが良い。国際活動支援については、コロナ禍もあり当初の海外渡航を伴う支援が困難となったのはやむを得ないが、その一方でリモートの活用が進み、セミナーや研究打合せを行う場所の制限が取り払われ、ハードルが下がったはずである。この利点を生かした計画班・公募班の研究推進と一般への情報公開に努めることが重要であろう。