

研究種目：基盤研究 (A)  
 研究期間：2007～2010  
 課題番号：19200057  
 研究課題名 (和文) 高松塚古墳壁画劣化要因微生物の遺伝・表現形質等基礎データの総合的構築  
 研究課題名 (英文) Integrated construction of genotypic and phenotypic data of microorganisms relating to the cause of deterioration of the Takamatsuzuka Tumulus mural paintings  
 研究代表者  
 佐野 千絵 (SANO CHIE)  
 独立行政法人国立文化財機構東京文化財研究所・保存修復科学センター・保存科学研究室長  
 研究者番号：40215885

研究代表者の専門分野：文化財保存環境学  
 科研費の分科・細目：文化財科学・文化財科学  
 キーワード：保存科学

#### 1. 研究計画の概要

高松塚古墳は著しい微生物劣化から 2007 年に解体修理となった。微生物の侵入経路や劣化機構解明には、壁面で繁殖している微生物だけではなく古墳内の微生物環境全体を把握することが重要である。本研究では、高松塚古墳壁画等汚染微生物群を総合し、遺伝形質データ (特に遺伝子塩基配列) 解析による種レベルの同定を行い系統分類学的位置を明らかにし、微生物劣化対策立案の基礎資料を総合的に構築することを目的とする。

高松塚古墳壁画の劣化にかかわるサンプルの提供を文化庁より受けて、カビ・酵母・バクテリアについて詳細同定を進め、埋蔵中の微生物叢の推移と古墳壁画劣化の関係について検討した。また、バイオリソースとして公開・活用可能とするための基礎研究として、劣化に係わった主要な微生物株 (カビ 61 株、酵母 19 株) についてそれらの多様性についての原著論文を投稿し、広く学術研究に供することができるよう詳細同定を進め、公的機関への寄託を順次おこなった。

- 1) 劣化要因微生物の遺伝子配列解析による種レベルでの同定
- 2) 分離株公開化のための調査研究
- 3) 劣化要因微生物の特性調査
- 4) 劣化要因微生物の栄養源に関する調査

#### 2. 研究の進捗状況

1) 劣化要因微生物の遺伝子配列解析による種レベルでの同定 *Penicillium paneum* Frisvad について、文化財の生物劣化に係わるはじめての分離報告例を示した。また、細菌、酵母について新種を提唱し論文で報告した。

もっとも高頻度で分離された種は、高松塚古墳・キトラ古墳ともに、土壌、昆虫、植物、下水などの自然環境からの分離報告例が多い *Pichia guilliermondii* であり、埋蔵中の土壌との微生物交換ルートが明確になった。

2) 分離株公開化のための調査研究 これまでに詳細同定を終えている保存菌株について分析を進めた。

3) 劣化要因微生物の特性調査 主要なカビとして分離された *Fusarium* 属、*Acremonium* 属、*Penicillium* 属、*Trichoderma* 属、*Phialocephala* 属の分離株を用いて、樹脂のカビ抵抗性試験、樹脂や薬剤等の資化性試験および各種微生物株の薬剤耐性試験を行った。また、これら分離株の有機酸産生能試験を行った。高松塚古墳からの *Fusarium* 属分離株およびその近縁対照株で顕著な酢酸生成が認められた。次いで *Acremonium* 属 (*Gliomastix* 節) 分離株で比較的酢酸の生成が多く見られたが、*Penicillium* 属、*Trichoderma* 属などの分離株や保存株では酢酸の生成はほとんど認められなかった。総有機酸量と液体培地の pH 低下量とは比較的相関が認められた。

4) 劣化要因微生物の栄養源に関する調査 石室目地で膠着剤として用いられた漆喰材料中の有機物について、糖・脂肪酸、アミノ酸の定量分析を進め、十分に生育可能な栄養源が存在することを明らかにした。また、ATP 発光量から微生物汚染度を把握し、場所による微生物汚染程度に多少があることを明確にした。また C, N, O 同位体比を指標として有機物の移動や原材料把握などの調査を進めた。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

主要な微生物群に関する詳細同定と微生物叢の推移の把握はほぼ終了した。新種と報告した酵母についてはすでに学術研究利用が可能な状態になっている。またその他の分離株を公開菌株化するための詳細同定もほぼ終了して再チェックの段階に入っている。平成 22 年度末にはかなりの部分が学術研究用に利用できるように整える予定である。

### 4. 今後の研究の推進方策

研究期間終了までに可能な限り新種提唱、詳細同定、微生物株の公開につとめる。また研究年度の終了後には、研究成果をより一層と普及させるため、シンポジウム開催や書籍刊行などを計画する予定である。

### 5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1) The identity of *Penicillium* sp. 1, a major contaminant of the stone chambers in the Takamatsuzuka and Kitora Tumuli in Japan, is *Penicillium paneum* (Kwang-Deuk An, Tomohiko Kiyuna, Rika Kigawa, Chie Sano, Sadatoshi Miura, Junta Sugiyama) *Antonie van Leeuwenhoek* 96 pp.579–592 09.9

2) 高松塚古墳石室内より分離された主要な微生物のギ酸・酢酸生成能 (佐野千絵・西島美由紀、喜友名朝彦、木川りか、杉山純多) 『保存科学』49 pp.209–220 10.3

3) *Candida tumulicola* sp. nov. and *Candida takamatsuzukensis* sp. nov., novel yeast species assignable to the *Candida membranifaciens* clade, isolated from the stone chamber of the Takamatsuzuka tumulus (Yuka Nagatsuka Tomohiko Kiyuna Rika Kigawa Chie Sano Sadatoshi Miura Junta Sugiyama) *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (2009), 59 :186–194

4) Mycobiota of the Takamatsuzuka and Kitora Tumuli in Japan, focusing on the molecular phylogenetic diversity of *Fusarium* and *Trichoderma* (Tomohiko Kiyuna · Kwang-Deuk An · Rika Kigawa Chie Sano · Sadatoshi Miura · Junta Sugiyama) *Mycoscience* (2008) 49:298–311

5) 2008 高松塚古墳発掘・解体作業に伴う生物調査の概要について、木川りか・杉山純多・高鳥浩介・間淵創・佐野千絵・三浦定俊、*保存科学*、47、121–128 (2008)

〔学会発表〕(計 7 件)

1) キトラ古墳石室内より分離された酢酸菌 2 新種および二、三の系統分類学的問題 (立里臨、半田 豊、西島美由紀、木川りか、佐野千絵、杉山純多) 第 19 回日本微生物系統分類研究会年次大会、木更津、09.11.12–13