

中高温微生物研究センター 研究活動報告書 (2009.9~2012.8)

発酵微生物部門

1) 研究活動 (概要) のまとめ (今後の方向性も含めて)

地球温暖化が、ある意味、着実に進行しており、加えて日本を襲っているエネルギー危機・電力危機の状況下で、本部門では発酵分野における省エネルギーや高温下での安定な発酵生産を可能にする技術 (高温発酵) の開発とそれらを可能にする耐熱性発酵微生物の「耐熱性」原理の理解を進めるための研究を部門全体でチームを作って、展開している。

その研究手法としては、このグループのメンバーが中心となって進めてきた熱帯性気候を有するタイをはじめとする東南アジア諸国の研究者との共同研究の中で発掘された「耐熱性」発酵微生物を利用する方法と、それらあるいは国内の常温菌を実験室的に適応育種する方法により「耐熱化」した株を得て、それらの耐熱性及び耐熱化発酵微生物を利用する高温発酵系を開発し、実用的な大規模発酵システムを構築する「応用研究」をすすめること、さらにそれらの菌株のゲノム解析に基づく、近縁種および親株との比較ゲノム解析を通して、「耐熱性」に寄与する遺伝子群を網羅的に明らかにして行く「基礎研究」をすすめることである。

現在、応用研究では、後述するように、タイ国でパイロットスケールの発酵生産試験が一部すすめられている。一方で、基礎研究では、いくつかの「耐熱性」遺伝子が見いだされていて、それらの機能解析が進むとともに、新たに適応育種や交配育種に基づくいくつかの比較ゲノム解析が展開中である。将来的には、これらの網羅的な耐熱性遺伝子解析に基づいて、「耐熱化」機構の全容を明らかにし、すべての発酵微生物に普遍的に応用可能な耐熱化原理を明らかにしようとしている。

a) 耐熱性発酵微生物の耐熱性分子機構を解析し、「中高温微生物」を規定する耐熱性概念の確立と情報発信

高温発酵のための基礎研究として、大腸菌と耐熱性エタノール生産性細菌の耐熱性分子機構の研究をすすめている。大腸菌においては、一遺伝子破壊株ライブラリーの網羅的探索から生育限界温度で必要となる必須遺伝子以外の遺伝子をほぼ決定した。これらの耐熱性遺伝子は、熱ショック遺伝子と異なる遺伝子セットであることが判明した。また耐熱化を可能とする遺伝子群のスクリーニングを実施し、候補遺伝子を絞り込んだ。一方、耐熱性エタノール生産菌においては、トランスポゾン挿入温度感受性変異株を分離し、挿入破壊遺伝子を特定した。さらに、生育限界温度が上昇した変異株の取得とそのゲノム解析を実施し、耐熱化に寄与する遺伝的変異候補を特定した。また、両菌株の解析結果から、生育限界温度域での酸化ストレスの軽減が耐熱化に寄与することを明らかにした。現在は、大腸菌における耐熱化遺伝子の同定を試みると共に、耐熱性エタノール生産菌での耐熱化を可能にする遺伝子を決定する研究に取り組んでおり、両菌株の情報を統合することで「耐熱性」概念を見出すことが可能であると考えている。

耐熱性酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* SKU1108 から実験室進化実験によって獲得された高温酢酸発酵適応株 *A. pasteurianus* TI および TH-3 株をゲノムワイドに解析した。ドラフトゲノム解析を基に高温適応変異株と親株の比較ゲノム (マッピング) を行い、TI 株に 6 遺伝子、TH-3 株には 11 遺伝子に変異を見いだした。そのうち 3 遺伝子 (転写因子, アミノ酸輸送体, ジカルボン酸輸送体) は共通であった。これら個々の遺伝子破壊株を作成し、これらの遺伝子の耐熱性への関与とその機構の解析を進めている。上記アミノ酸輸送体の遺伝子破壊株の機能に関連して、様々なアミノ酸を培地に添加して生育限界温度を調べたところ、いくつかのアミノ酸で生育限界温度の上昇が見られた。各アミノ酸の性質と関連づけた考察はできていないが、アミノ酸添加は容易な操作でもあり、産業的実用化に適うものであると考えている。今後、実験系を整え、アミノ酸添加実験をより厳密に行うとともに、細胞内アミノ酸レベルの定量やア

ミノ酸取り込み実験などを通じて、この輸送体の機能を明らかにしたい。

また、*Gluconobacter frateurii* CHM43 を用いて取得した高温「ソルボース発酵」適応株 *G. frateurii* CHM43AD 株の機能解析とゲノム解析が行われた。ソルボース発酵に中心的な役割を果たすグリセロール脱水素酵素 (GLDH) の補欠分子族 PQQ を野生株よりも多く生産することを明らかにした。本酵素が高温で PQQ を解離しやすくなるという観察と相まって、本菌の高温での生育とソルボース発酵が GLDH の活性維持によって保証されると考察した。野生株と適応株のゲノム解析から、輸送体遺伝子に変異を見いだした。この遺伝子の破壊株を作製し、高温での生育を解析したところ、この株は野生株よりも高温で生育することができた。今後この輸送体遺伝子について、AD 株型と野生型の産物の機能解析を進め、耐熱性との関係や PQQ 量の増加との関連を明らかにしていきたい。

16S RNA の塩基配列が同一でありながら、生育限界温度が異なる常温性酢酸菌 1 株と耐熱性酢酸菌 2 株の比較ゲノム解析を行った。2 千あまりの共通遺伝子を抽出し、共通遺伝子全てを用いて系統解析を行ったところ、系統と耐熱性に関連性が見られた。またいくつかの遺伝子において常温性株に顕著に塩基配列とアミノ酸配列に変化が見られたので、これらが耐熱性を持っていないことに関連している可能性が考えられた。今後さらに菌株を増やしてゲノム解析を行い、比較ゲノム解析から耐熱性メカニズムや耐熱性の獲得・喪失の経緯を考察したい。

上記以外の試みとして、国内で単離された *A. pasteurianus* を用いて実験室進化実験を行った。37°C から開始し、0.5°C または 1°C ずつ段階的に耐熱化適応実験を繰り返し、最終的に 41°C で酢酸発酵を行える耐熱化株を取得した。この耐熱化株は特に国内での産業利用に展開したいと考えている。これに加えて、高度酢酸耐性酢酸菌 *Gluconacetobacter xylinus* ならびにアミノ酸発酵を行うコリネ型細菌についても耐熱化実験室進化を行っている。

b) 耐熱性酢酸菌を利用する種々の高温発酵系の開発と、国内および東南アジアにおける実用化

実験室進化株、特に *A. pasteurianus* TH-3 株及び *G. frateurii* CHM43AD 株を用いて、それぞれ 40°C 付近での高温酢酸発酵及びソルボース発酵が可能であることを明らかにした。さらに、これらの耐熱化株は、非温度制御下で、発酵熱・機械熱の発生に耐えて、それぞれ酢酸発酵とソルボース発酵を行う能力を有することが明らかになった。また、MEXT-ARDA プロジェクトの一環として、タイのグループとの共同で、*A. pasteurianus* TH-3 株やその他の耐熱性菌を用いた Jasmine rice vinegar の生産試験も開始している。

c) 耐熱性酵母およびバクテリアを利用した高温バイオエタノール生産系の開発と、国内および東南アジアにおける実用化

有用菌株の開発及び解析を進め、耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* で、野生株よりもさらに高い温度で生き残りやすい菌株を取得した。また、耐熱性エタノール生産菌のさらなる耐熱化株を開発した。これらの微生物を用いて、タイバイオマスを基にしたラボスケールでの高温エタノール生産試験を、MEXT-ARDA プロジェクト「熱帯性環境微生物による省エネ高温発酵技術」(H22-24) の一部として実施している。一方、高温エタノール発酵系の開発研究を、農水省の 6 次産業化対策事業の技術確立実証試験「バイオエタノールの効率的生産」(H23-24) として実施し、耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* および耐熱性 *Zymomonas mobilis* による高温エタノール発酵と考案した発酵槽の構成により 30% 程度のコスト削減が可能であることを示した。今後はこれらの実績を踏まえ、地域でのバイオエタノール生産を事業として可能にすることを目標に高温エタノール発酵の研究開発を進めたい。加えて、耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* によるタイでのパイロットプラント高温 (40°C) エタノール発酵試験を成功させた。その事業はタイ国と日本国との国際バイオエタノール製造技術実証事業 (NEDO: 2012 年度～2014 年度、予算規模: 約 7 億円、サッポロビール、磐田化学) へ展開する予定である。現在、有用耐熱性遺伝子の同定のためのゲノム解析を進め、網羅的な耐熱性遺伝子同定に向けて ALCA 低炭素計画が進行中である。

d) セルロース系バイオマスを利用したバイオエタノール生産系の開発

高温エタノール発酵の応用に向けて、木質系バイオマスのように五単糖を含む複数の糖が混在する系での耐熱性酵母による高温発酵研究を、コスモ石油及び日本製紙ケミカルとの共同研究「サルファイトパルプ排液中の糖を対象としたエタノール発酵菌の開発」(H23)として実施し、アジア拠点事業(H20-24)によってラオスから分離された菌株が、セルロース系バイオマスからのエタノール生産を可能とする開発候補株であることを示した。現在は、この菌株や他の有用株を用い、五単糖からエタノール生産可能な耐熱性酵母の育種に取り組んでいる。一方、耐熱性エタノール生産菌が、遺伝子組換えにより、高温で乳酸のような有用物質を生産できることを示した。今後は、木質系バイオマスから単一菌株で高温エタノール発酵が可能な菌株の開発に取り組んでいきたい。

これらの課題とは別に、発酵において重要な課題である有用細菌の溶菌抑制や長期生存維持の研究に取り組んだ。その中で、微生物の生存戦略を明らかにする研究を奈良先端大森教授との共同研究「バクテリア細胞定常状態における細胞死に機能する遺伝子ネットワーク」(H22-24)として実施し、大腸菌において新規な溶菌現象を引き起こす遺伝子を見出すと共にその溶菌機構を明確にした。また、長期生存維持に関しては、大腸菌が栄養培地で長期的に生存する際に生菌数が周期変動すること及びその変動が温度により影響されることを明らかにした。今後は、見出した溶菌機構と長期生存維持機構との関連性を明らかにすることで、微生物の生存戦略に対する新たな知見を得たいと考えている。

2) 外部との連携活動(海外および国内での連携および共同研究)

【海外との連携】

日本学術振興会・アジア研究教育拠点事業 2008-2012年度：山田 守(代表) 松下, 薬師, 高坂, 赤田(分担)

日本、タイ、ベトナム、ラオスの微生物学研究者を統合した「微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築」に関する共同研究の推進。日本の23研究機関70人、タイの21研究機関72人、ベトナムの5研究機関13人、ラオスの1研究機関8人が参加して、4カ国による共同研究9件を含む43件の共同研究を組んですすめている。これまでに、タイで2008年(カセサート大)と2010年(コンケン大)に合同セミナーを開催し、今年11月には下関で最終合同セミナー開催予定である。これらの合同セミナーに加え、ベトナムとラオスでサテライトセミナーをそれぞれ3回および2回開催した。

若手研究者支援事業の実施(JENESYS: 2010年度, 2011年度)：山田 守(代表) 松下, 薬師, 高坂, 赤田(分担)

学生支援事業の実施(SSSV: 2011年度, 2012年度)：山田守(代表) 松下, 薬師, 高坂, 赤田(分担)

MEXT-ARDAプロジェクト(タイとの国際共同研究：元科学技術振興調整費・現科学技術戦略推進費)(2010~2012年度)：山田 守(代表) 松下, 薬師, 高坂, 星田, 樋口(分担)

上記の4つの事業に関連して、研究者や学生(院生)の受け入れを行った。

松下・薬師：2009年度にはタイから2名を、2010年度にはタイから2名を、2011年度にはタイから2名、ラオスから1名、ベトナムから1名の研究者、ならびにタイから2名の学生を、2012年度にはタイから2名の研究者と4名の学生を短期間受け入れた。

山田・高坂：2009年度にはタイから1名とバングラデシュから1名の研究者を、2010年度にはインドネシアから2名、ラオスから1名、バングラデシュから1名、タイから4名の研究者を、2011年度にはインドネシアから2名、ラオスから1名、バングラデシュから1名、タイから4名の研究者およびタイから3名の学生を、2012年度にはバングラデシュから1名とタイから5名の研究者およびタイから5名の学生を短期間受け入れた。

赤田：2009年度にはタイから1名，ベトナムから2名，2010年度にはベトナムから1名，タイから1名，2011年度にはベトナムから1名，タイから2名の研究者，ならびにタイから4名の学生を短期間受け入れた。

Kasetsart University (Thailand) との共同研究（継続中）：山田守、高坂智之:エタノール生産性耐熱性酵母の研究

Khon Kean University (Thailand)との共同研究（継続中）：山田守、高坂智之:エタノール高速生産性耐熱性細菌の研究

Jahangirnagar University (Bangladesh) との共同研究（継続中）：山田守、高坂智之::有用微生物に関する研究

Kasetsart University (Thailand) との共同研究（継続中）：松下一信、薬師寿治:耐熱性酢酸菌の研究

Research Center Borstel (Germany) との共同研究（継続中）：山田守（代表）:大腸菌の膜ストレス応答

【国内での連携】

独立行政法人製品評価基盤機構 (NITE) との共同研究（継続中）山田守（代表）：エタノール生産性耐熱性酵母のゲノム解析

東邦大学および大阪大学との共同研究（継続中）山田守、高坂智之：グルコース脱水素酵素の解析

東京大学との共同研究（継続中）山田守、高坂智之：エタノール高速生産性耐熱性細菌およびエタノール生産性耐熱性酵母のゲノム解析

ミツカン中央研究所との共同研究（継続中）松下・薬師：酢酸発酵に関する研究

東邦大学（後藤勝）との共同研究（継続中）松下・薬師：酢酸菌酵素の結晶構造解析に関する研究

京都大学（加納健司）との共同研究（継続中）松下・薬師：酢酸菌膜酵素を利用した酵素電極に関する研究

愛媛大学（阿野嘉孝）との共同研究（継続中）松下・薬師：酢酸菌の酸化発酵に関する共同研究

琉球大学（外山博英）との共同研究（継続中）松下・薬師：耐熱性酢酸菌の耐熱性機構に関する研究

近畿大学（東慶直）との共同研究（継続中）松下・薬師：酢酸菌のゲノム及びフェノーム解析に関する研究

ビール会社との共同研究（2009～）赤田：ビール酵母の育種

石油会社との共同研究（2011～）赤田：耐熱性酵母の糖の資化性に関する研究（石油・エネルギー関連会社は共同組合によるバイオマスエネルギー生産計画を国と策定しており、将来のバイオマスエネルギーを担う計画である。その一つの石油会社との共同研究で、耐熱性酵母の将来性を見越し、基礎的な共同研究を行っている。）

プラント会社との共同研究（2010～）赤田：耐熱性酵母を利用したセルロース系廃棄物からの高温エタノール発酵の研究

製紙会社との共同研究（2011～）赤田：酵母によるRNA生産量の測定法の開発と高RNA生産株の育種

発酵会社との共同研究（2012～）赤田：培養細胞による物質生産

サッポロビール株式会社、磐田化学工業株式会社（山口大学・タイのウボンラチャタニ大学）との共同研究（2012年度～2014年度）赤田：キャッサバパルプからのバイオエタノール製造技術実証事業

NEDOは、タイ王国において初のキャッサバパルプからのバイオエタノール製造技術実証事業に着手する。この事業は、我が国が有する高温発酵酵母（本センター事業での成果）を用いたキャッサバパルプからのバイオエタノール製造技術を実証し、今後の普及を図ることを目的し、本事業の成果を通じて、同国への本技術の定着化とバイオエタノール製造設備の整備・強化に向けた働きかけを行い、将来はタイ全土へ、さらにキャッサバ栽培に熱心なASEAN地域への普及を目指す。予算規模：約7億円（うちNEDO負担 約5億円）

奈良先端大森教授との科研費Aによる共同研究（H22-24）山田守、高坂智之：バクテリア細胞定常状態における細胞死に機能する遺伝子ネットワーク

協和発酵技術研究所との共同研究（2011年6月～2012年5月）：松下・薬師：キナ酸からのシキミ酸発酵系の遺伝子工学的開発

コスモ石油及び日本製紙ケミカルとの共同研究（2011年9月～2012年3月）山田守、高坂智之：有用酵母開発のための基礎研究

ビール会社との共同研究（2011）赤田：低温発酵性の研究

検査会社との共同研究（2011）赤田：ウイルスタンパク質の酵母による生産

独立行政法人産業技術総合研究所との共同研究（2009年5月～平成2012年3月）：松下・薬師：グリセリン誘導体を基幹ブロックとした高機能化学品生産プロセスの開発に関する研究

自動車会社および石油会社との共同研究（2009～2011年）赤田：耐熱性酵母の糖の資化性に関する研究（当初は石油会社単独で、途中でT自動車が入参した。耐熱性酵母の能力に関する調査も兼ね、バイオマスエネルギー生産の可能性を共同で研究した。）

協和発酵バイオとの共同研究（2008年4月～2010年3月）山田守、高坂智之：ザイモモナスに関する研究

3) 競争的資金の獲得状況

【科学研究費】(順不同)

科研費・萌芽研究 20658020：松下一信（代表）；酢酸菌呼吸鎖の新規末端オキシダーゼ（CIO）の解析とそのエネルギー代謝工学的応用：2008～2009年度（3,400千円）

科研費・基盤 B 22380054：松下一信（代表）；酢酸菌「酸化発酵」の分子基盤解析とそれに基づく「酸化発酵」能の開発：平成 22～24 年（13,800 千円）

科学研究費基盤（A） 山田 守（分担）；平成 22～24 年度（5,000 千円）

科学研究補助金・基盤研究（C）薬師寿治（代表）；酢酸菌が行う酢酸発酵における残された課題：アセトアルデヒド酸化に関する研究：2011-2013 年度（3,900 千円）

科研費・萌芽研究 24658096：赤田倫治（代表）；診断・ワクチン用ウイルス抗原タンパク質の酵母による多種類大量生産技術の開発：24 年度～26 年度（4,030 千円）

【受託研究費】(順不同)

独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構生物系特定産業技術研究支援センター「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」（一般型）：松下一信（代表）；耐熱性発酵微生物の「耐熱性」分子機構の解明と発酵産業への利用：2006～2010 年度（2009 年度：53,000 千円，2010 年度 30,000 千円）

- NEDO バイオマスエネルギー先導研究：赤田倫治（代表）；耐熱性酵母による低コスト発酵技術の研究開発：2007～2010 年度（100,000 千円）
- 独立行政法人日本学術振興会（JSPS）「アジア研究教育拠点事業」山田守（代表）；微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築：平成 20～24 年度（10,000 千円/年）
- JST 産学連携・技術移転事業（つなぐしくみ）：赤田倫治（代表）；凝集性耐熱性酵母によるバイオエタノール生産：2009 年度～2010 年度（2,000 千円）
- 外務省「若手研究者交流支援事業～東アジア首脳会議参加国からの若手研究者招聘事業（JENESYS program）」山田守（代表）；東南アジア若手研究者との熱帯性環境微生物資源の継続的な共同開発研究：平成 22, 23 年度（10,000 千円/年）
- 文部科学省「MEXT-ARDA プロジェクト（タイとの国際共同研究）科学技術戦略推進費（H23 より科学技術戦略推進費）」山田守（代表）；熱帯性環境微生物による省エネ高温発酵技術：平成 22～24 年度（27,000 千円/年）
- 独立行政法人日本学生支援機構（JASSO）「ショートステイ・ショートビジット（SSSV）」：山田守（代表）；中高温微生物学国際ネットワーク形成プログラム：平成 23, 24 年度（3,000 千円/年）
- 農林水産省「農山漁村 6 次産業化対策事業（緑と水の環境技術革命プロジェクト事業）」：山田守（代表）；バイオエタノールの効率的生産：平成 23 年度（10,000 千円/23 年度；2,100 千円/24 年度）
- 戦略的創造研究推進事業（科学技術振興機構）：松下一信（代表）；低炭素化に資する発酵微生物のゲノム育種およびゲノム工学的「耐熱化」：2011～2016 年度（2011 年度：39,500 千円, 2012 年度：40,000 千円）
- 公益法人発酵研究所・一般研究助成：薬師寿治（代表）；D-ソルビトールからの D-フルクトース発酵を可能にする酢酸菌株のスクリーニングと育種：2011～2012 年度（3,000 千円）

4) 研究業績

【原著論文】

2012 年

- Soemphol W, Saichana N, Yakushi T, Adachi O, Matsushita K, Toyama H. 2012. Characterization of Genes Involved in (D)-Sorbitol Oxidation in Thermotolerant (*Gluconobacter frateurii*). *Biosci Biotechnol Biochem.* 76(8) 1497-1505.
- Hattori H, T Yakushi, M Matsutani, D Moonmangmee, H Toyama, O Adachi, K Matsushita. 2012. High-temperature sorbose fermentation with thermotolerant *Gluconobacter frateurii* CHM43 and its mutant strain adapted to higher temperature. *Appl Microbiol Biotechnol.* 95(6) 1531-1540.
- Sawada K, Y Kato, K Imai, L Li, M Wada, K Matsushita, A Yokota. 2012. Mechanism of increased respiration in an H⁺-ATPase-defective mutant of *Corynebacterium glutamicum*. *J Biosci Bioeng* 113: 467-473.
- Matsutani M, H Hirakawa, N Saichana, W Soemphol, T Yakushi, K Matsushita. 2012. Genome-wide phylogenetic analysis of differences in thermotolerance among closely related *Acetobacter pasteurianus* strains. *Microbiology* 158: 229-239.
- Murata M, Noor R, Nagamitsu H, Tanaka S, Yamada M. Novel pathway directed by sigma E to cause cell lysis in *Escherichia coli*. *Genes Cells*, 17: 234-247 (2012)
- Murakami N, Miyoshi S, Yokoyama R, Hoshida H, Akada R, Ogata T. Construction of a URA3 deletion strain from the allotetraploid bottom-fermenting yeast *Saccharomyces pasteurianus*. *Yeast*, 29: 155-165 (2012)
- Cha-Aim K, Hoshida H, Fukunaga T, Akada R. Fusion PCR via Novel Overlap Sequences. *Gene Synthesis Methods Mol. Biol.* 852, 97-110 (2012)
- Yamaguchi M, Noda NN, Yamamoto H, Shima T, Kumeta H, Kobashigawa Y, Akada R, Ohsumi Y, Inagaki F. Structural insights into Atg10-mediated formation of the autophagy-essential Atg12-Atg5 conjugate. *Structure*, 20, 1244-1254 (2012)

2011 年

- Soemphol W, A Deeraaksa, M Matsutani, T Yakushi, H Toyama, O Adachi, M Yamada, K Matsushita. 2011. Global analysis of the genes involved in the thermotolerance mechanism of thermotolerant *Acetobacter tropicalis* SKU1100. *Biosci Biotechnol Biochem* 75: 1921-1928.
- Ogino H, Y Azuma, A Hosoyama, H Nakazawa, M Matsutani, A Hasegawa, K Otsuyama, K Matsushita, N Fujita, M Shirai. 2011. Complete genome sequence of NBRC 3288, a unique cellulose-nonproducing strain of *Gluconacetobacter xylinus* isolated from vinegar. *J Bacteriol* 193: 6997-6998.
- Matsutani M, H Hirakawa, T Yakushi, K Matsushita. 2011. Genome-wide phylogenetic analysis of *Gluconobacter*, *Acetobacter*, and *Gluconacetobacter*. *FEMS Microbiol Lett* 315: 122-128.
- Matsutani M, H Hirakawa, M Nishikura, W Soemphol, IA Ali, T Yakushi, K Matsushita. 2011. Increased number of Arginine-based salt bridges contributes to the thermotolerance of thermotolerant acetic acid bacteria, *Acetobacter tropicalis* SKU1100. *Biochem Biophys Res Commun* 409: 120-124.
- Masud U, K Matsushita, G Theeragool. 2011. Molecular cloning and characterization of two inducible NAD-adh genes encoding NAD-dependent alcohol dehydrogenases from *Acetobacter pasteurianus* SKU1108. *J Biosci Bioeng* 112: 422-431.
- Kubota K, K Nagata, M Okai, K Miyazono, W Soemphol, J Ohtsuka, A Yamamura, N Saichana, H Toyama, K Matsushita, M Tanokura. 2011. The crystal structure of l-sorbose reductase from *Gluconobacter frateurii* complexed with NADPH and l-sorbose. *J Mol Biol* 407: 543-555.
- Kihira C, Y Hayashi, N Azuma, S Noda, S Maeda, S Fukiya, M Wada, K Matsushita, A Yokota. 2011. Alterations of glucose metabolism in *Escherichia coli* mutants defective in respiratory-chain enzymes. *J Biotechnol* 158: 215-223.
- Habe H, S Sato, T Fukuoka, D Kitamoto, T Yakushi, K Matsushita, K Sakaki. 2011. Membrane-bound alcohol dehydrogenase is essential for glyceric acid production in *Acetobacter tropicalis*. *J Oleo Sci* 60: 489-494.
- Ano Y, E Shinagawa, O Adachi, H Toyama, T Yakushi, K Matsushita. 2011. Selective, high conversion of D-glucose to 5-keto-D-gluconate by *Gluconobacter suboxydans*. *Biosci Biotechnol Biochem* 75: 586-589.
- Adachi O, RA Hours, E Shinagawa, Y Akakabe, T Yakushi, K Matsushita. 2011. Formation of 4-keto-D-aldopentoses and 4-pentulosonates (4-keto-D-pentonates) with unidentified membrane-bound enzymes from acetic acid bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 75: 1801-1806.
- Adachi O, RA Hours, E Shinagawa, Y Akakabe, T Yakushi, K Matsushita. 2011. Enzymatic synthesis of 4-pentulosonate (4-keto-D-pentonate) from D-aldopentose and D-pentionate by two different pathways using membrane enzymes of acetic acid bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 75: 2418-2420.
- Thanonkeo P, Thanonkeo S, Charoensuk K, Yamada M. Ethanol production from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) by *Zymomonas mobilis* TISTR548. *African Journal of Biotechnology*, 10: 10691-10697 (2011)
- Rodrussamee N, Lertwattanasakul N, Hirata K, Suprayogi, Limtong S, Kosaka T, Yamada M. Growth and ethanol fermentation ability on hexose and pentose sugars and glucose effect under various conditions in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90: 1573-1586 (2011)
- Charoensuk K, Irie A, Lertwattanasakul N, Sootsuwan K, Thanonkeo P, Yamada M. Physiological Importance of Cytochrome c Peroxidase in Ethanologenic Thermotolerant *Zymomonas mobilis*. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 20: 70-82 (2011)
- Lertwattanasakul N, Rodrussamee N, Suprayogi, Limtong S, Thanonkeo P, Kosaka T, Yamada M. Utilization capability of sucrose, raffinose and inulin and its less-sensitiveness to glucose repression in thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042. *AMB Express*, 1: 20 (2011)
- Murata M, Fujimoto H, Nishimura K, Charoensuk K, Nagamitsu H, Raina S, Kosaka T, Oshima T, Ogasawara N, Yamada M. Molecular strategy for survival at a critical high temperature in *Escherichia coli*. *PLoS ONE*, 6: e20063 (2011)
- Fujimoto N, Kosaka T, Nakao T, Yamada M. *Bacillus licheniformis* Bearing a High Cellulose-Degrading Activity, which was Isolated as a Heat-Resistant and Micro-Aerophilic Microorganism from Bovine Rumen. *Open Biotechnology Journal*, 5: 7-13 (2011)

- Akao T, Yashiro I, Hosoyama A, Kitagaki H, Horikawa H, Watanabe D, Akada R, Ando Y, Harashima S, Inoue T, Inoue Y, Kajiwaru S, Kitamoto K, Kitamoto N, Kobayashi O, Kuhara S, Masubuchi T, Mizoguchi H, Nakao Y, Nakazato A, Namise M, Oba T, Ogata T, Ohta A, Sato M, Shibasaki S, Takatsume Y, Tanimoto S, Tsuboi H, Nishimura A, Yoda K, Ishikawa T, Iwashita K, Fujita N, Shimoi H. Whole-genome sequencing of sake yeast *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai no. 7. *DNA Research*,18(6):423-34 (2011)
- Kitagawa T, Kohda K, Tokuhiko K, Hoshida H, Akada R, Takahashi H, Imaeda T. Identification of genes that enhance cellulase protein production in yeast. *J Biotechnol*. 151(2):194-203 (2011)

2010 年

- Yoshida Y, H Kuroiwa, O Misumi, M Yoshida, M Ohnuma, T Fujiwara, F Yagisawa, S Hirooka, Y Imoto, K Matsushita, S Kawano, T Kuroiwa. 2010. Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science* 329:949-53.
- Shinagawa E, O Adachi, Y Ano, T Yakushi, K Matsushita. 2010. Purification and characterization of membrane-bound 3-dehydroshikimate dehydratase from *Gluconobacter oxydans* IFO 3244, a new enzyme catalyzing extracellular protocatechuate formation. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:1084-8.
- Masud U, K Matsushita, G Theeragool. 2010. Cloning and functional analysis of adhS gene encoding quinoprotein alcohol dehydrogenase subunit III from *Acetobacter pasteurianus* SKU1108. *Int J Food Microbiol* 138:39-49.
- Kubota K, K Miyazono, K Nagata, H Toyama, K Matsushita, M Tanokura. 2010. Crystallization and preliminary X-ray analysis of 5-keto-D-gluconate reductase from *Gluconobacter suboxydans* IFO12528 complexed with 5-keto-D-gluconate and NADPH. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 66:1680-2.
- Kanchanarach W, G Theeragool, T Inoue, T Yakushi, O Adachi, K Matsushita. 2010. Acetic acid fermentation of *Acetobacter pasteurianus*: relationship between acetic acid resistance and pellicle polysaccharide formation. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:1591-7.
- Habe H, Y Shimada, T Fukuoka, D Kitamoto, M Itagaki, K Watanabe, H Yanagishita, T Yakushi, K Matsushita, K Sakaki. 2010. Use of a *Gluconobacter frateurii* mutant to prevent dihydroxyacetone accumulation during glyceric acid production from glycerol. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:2330-2.
- Habe H, T Fukuoka, T Morita, D Kitamoto, T Yakushi, K Matsushita, K Sakaki. 2010. Disruption of the membrane-bound alcohol dehydrogenase-encoding gene improved glycerol use and dihydroxyacetone productivity in *Gluconobacter oxydans*. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:1391-5.
- Adachi O, RA Hours, Y Akakabe, S Tanasupawat, P Yukphan, E Shinagawa, T Yakushi, K Matsushita. 2010. Production of 4-keto-D-arabonate by oxidative fermentation with newly isolated *Gluconacetobacter liquefaciens*. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:2555-8.
- Adachi O, Y Ano, E Shinagawa, T Yakushi, K Matsushita. 2010. Conversion of quinate to 3-dehydroshikimate by Ca-alginate-immobilized membrane of *Gluconobacter oxydans* IFO 3244 and subsequent asymmetric reduction of 3-dehydroshikimate to shikimate by immobilized cytoplasmic NADP-shikimate dehydrogenase. *Biosci Biotechnol Biochem* 74:2438-44.
- Kanchanarach W, G Theeragool, T Yakushi, H Toyama, O Adachi, K Matsushita. 2010. Characterization of thermotolerant *Acetobacter pasteurianus* strains and their quinoprotein alcohol dehydrogenases. *Appl Microbiol Biotechnol* 85:741-51.
- Babiker M. A. Abdel-Banat, Sanom Nonklang, Hisashi Hoshida, Rinji Akada. Random and targeted gene integrations through the control of non-homologous end joining in the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Yeast*, 27: 29–39 (2010)

2009 年

- Habe H, Y. Shimada, T. Yakushi, H. Hattori, Y. Ano, T. Fukuoka, D. Kitamoto, M. Itagaki, K. Watanabe, H. Yanagishita, K. Matsushita, K. Sakaki. 2009. Microbial production of glyceric acid, an organic acid that can be mass produced from glycerol. *Appl Environ Microbiol* 75:7760-6.
- Azuma, Y., A. Hosoyama, M. Matsutani, N. Furuya, H. Horikawa, T. Harada, H. Hirakawa, S. Kuhara, K. Matsushita, N. Fujita, M. Shirai. 2009. Whole-genome analyses reveal genetic instability of *Acetobacter pasteurianus*. *Nucleic Acids Res* 37:5768-83.
- Takashima, E., H. Yamada, T. Yamashita, K. Matsushita, K. Konishi. 2009. Recombinant expression and redox properties of triheme c membrane-bound quinol peroxidase. *FEMS Microbiol Lett* 302:52-7.

- Mogi, T., T. Kawakami, H. Arai, Y. Igarashi, K. Matsushita, M. Mori, K. Shiomi, S. Omura, S. Harada, K. Kita. 2009. Succinyl-CoA reductase rediscovered as a species-selective succinate dehydrogenase inhibitor. *J Biochem* 146:383-7.
- Tabuchi M, Kawai Y, Nishie-Fujita M, Akada R, Izumi T, Yanatori I, Miyashita N, Ouchi K, Kishi F. Development of a novel functional high-throughput screening system for pathogen effectors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 73(10):2261-2267.(2009)
- Noor R, Murata M, Nagamitsu H, Klein G, Raina S, Yamada M. Dissection of sigma(E)-dependent cell lysis in *Escherichia coli*: roles of RpoE regulators RseA, RseB and periplasmic folding catalyst PpiD. *Genes Cells*, 14: 885-899 (2009)
- Lertwattanasakul N, Shigemoto E, Rodrussamee N, Limtong S, Thanonkeo P, Yamada M. The crucial role of alcohol dehydrogenase Adh3 in *Kluyveromyces marxianus* mitochondrial metabolism. *Biosci Biotechnol Biochem*, 73: 2720-2726 (2009)
- Noor R, Murata M, Yamada M. Oxidative stress as a trigger for growth phase-specific sigmaE-dependent cell lysis in *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 17: 177-187 (2009)

【著書・総説】

- 北川孝雄, 星田尚司, 赤田倫治, 耐熱性酵母 *Kluyveromyces marxianus* を用いた物質生産と遺伝子操作, 特集 酵母イノベーション バイオインダストリー 第28巻, 第6号 21-26, 2011 シーエムシー出版
- Junko K Akada, Hiroki Aoki, Yuji Torigoe, Takao Kitagawa, Hisao Kurazono, Hisao Hoshida, Jun Nishikawa, Shuji Terai, Masunori Matsuzaki, Toshiya Hirayama, Teruko Nakazawa, Rinji Akada, and Kazuyuki Nakamura, Helicobacter pylori CagA Inhibits Endocytosis of Cytotoxin VacA in Host Cells. *Disease Models and Mechanisms*, 3:605-617(2010)
- Mamoru Yamada: High-temperature ethanol fermentation technology with thermotolerant ethanologenic yeast *Kluyveromyces marxianus* DMKU3-1042. In Collection of Selected Research Seeds from Five National Universities in West Japan. pp50-51, 2011
- Naoko Fujimoto, Tomoyuki Kosaka, and Mamoru Yamada: Menaquinone as well as ubiquinone as a crucial component in the *Escherichia coli* respiratory chain. In Chemical Biology (ISBN 978-953-51-0049-2) ed. Deniz Ekinici, pp187-208 2012
- Masayuki Murata, Tomoyuki Kosaka and Mamoru Yamada: Small non-coding RNAs and their involvement in regulation of various biological processes in *Escherichia coli* and other bacteria. In *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*; the frontiers of molecular microbiology revisited, Matsumoto and Sadaiye (eds) Research Signpost, in press.
- Noppon Lertwattanasakul, Masayuki Murata, Nadchanok Rodrussamee, Suprayogi, Yasuyuki Nakajima, Kannikar Charoensuk, Tomoyuki Kosaka, Keawta Sootsuwan, Savitree Limtong, Wichien Yongmanitchai, Pornthap Thanonkeo and Mamoru Yamada: High-temperature ethanol fermentation with thermotolerant microbes. In Food Safety & Hygiene, N. Choudhury, C. R. Ahsan and M. M. Karim (Eds), in press
- Talukder, A.A., Alam, S., Ershaduzzaman, Md, Basgar, K., Yamada M. Structure organization of co-regulated genes in *Escherichia coli*. *J. Bacteriology Research* 1:68-78 (2009)
- 松下一信 好気呼吸による「発酵」を行う酢酸菌 生物工学会誌 90:340-343 (2012)
- 松下一信, 松谷峰之介, 薬師寿治 2010 醸造協会誌 105: 730.
- Yakushi, T., and K. Matsushita. 2010. Alcohol dehydrogenase of acetic acid bacteria: structure, mode of action, and applications in biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol* 86:1257-65.
- 薬師寿治, 松下一信 2009 酢酸菌の酸化発酵を司る呼吸鎖酵素群 バイオサイエンスとインダストリー 67:308-315.
- 赤田倫治, 星田尚司: 教材研究「パン酵母を利用した組換えDNA実験キット」を用いた理科授業「東書Eネット(TEN)」
- 赤田倫治, 星田尚司, 阿野明彦, 阿部透, 三谷優, 耐熱性酵母のバイオエタノール製造への応用, バイオエタノール通信 2011 no. 6, p. 27-34
- Babiker M. A. Abdel-Banat, Hisashi Hoshida, Akihiko Ano, Sanom Nonklang, Rinji Akada. High-temperature fermentation: how can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast?" *Applied Microbiology and Biotechnology* 85, 861-867 (2010)
- 星田尚司, サノム ノンクラ, バビカー アブデルーバナット, 中村潤平, 赤田倫治: 耐熱

- 赤田倫治 記事 2009年度シンポジウム「地球エネルギー戦略 バイオエタノールの現在・未来」報告 生物工学会誌 88巻 2010.2
- 星田尚司, Sanom Nonklang, 阿野明彦, 三谷優, 赤田倫治 「耐熱性酵母による高温エタノール発酵システムの開発」セルロース系バイオエタノール製造技術—食料クライシス回避のために— 監修: 近藤明彦, 植田充美 NTS 第3編, 発酵技術, 第4章 263-275 2010.3.26
- 松下一信: 地域資源活用食品加工総覧 追録6号 (社) 農山漁村文化協会 (2009年11月10日) 第3巻 微生物を生かした食品製造—酢酸菌の特性とその食品製造への利用— pp. 508-6~508-16 (全11ページ)

【招待講演】

- M. Yamada: keynote lecture “Usefulness of thermotolerant microbes” The Royal Golden Jubilee Seminar, Bangkok, Thailand, August 24, 2012
- K. Matsushita [Closing talk]: Adaptive Evolution and Adaptive Breeding of Acetic Acid Bacteria, and its Future Prospect for AAB Research and Development. 3rd International Conference on Acetic Acid Bacteria, Cordoba, Spain, April 17-20, 2012
- 山田 守: 熱帯性環境微生物による省エネ高温発酵技術: 平成23年度科学技術戦略推進費シンポジウム「国際共同研究から科学技術外交推進へ —国際戦略展開をいかに推進するか—」 Feb. 21 2012, 東京, 日本
- M. Yamada: Discovery of molecular mechanism of thermotolerance in microbes. Grand Opening of ARDA New Building, Feb. 4 2011, Bangkok, Thailand
- M. Yamada, Noppon Lertwattanasakul, Masayuki Murata, Nadchanok Rodrussamee, Suprayogi, Kannikar Charoensuk, Tomoyuki Kosaka, Keawta Sootsuwan, Savitree Limtong, Wichien Yongmanitchai and Pornthap Thanonkeo: High-temperature ethanol fermentation, BIT's 1st Annual World Congress of Bioenergy-2-11, Abstract p185, Dalian, China, 25-30 April, 2011
- T Kosaka: Genomic approach to genetically unfavorable microorganisms. The 5th Young Scientist Seminar, Nov 22-23 2011, Yamaguchi, Japan.
- M Yamada, N Lertwattanasakul, M Murata, N Rodrussamee, Suprayogi, K Hirata, K Charoensuk, T Kosaka, S Limtong, P Thanonkeo: Economical biofuel production and international collaboration. International Seminar in Bravijaya University, Dec. 7 2011, Indonesia
- K. Matsushita: Adaptive Evolution of Acetic Acid Bacteria and In Vitro Adaptation for the Application. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Sapporo, Japan, September 6-10 (2011)
- K. Matsushita: Keynote lecture “Adaptive evolution and experimental adaptation of thermotolerant acetic acid bacteria” The 4th international conference on fermentation technology for value added agricultural products: Khon Kaen, Thailand, August 29-31 (2011)
- M. Yamada: Intracellular oxidative stress and sigma E-directed cell lysis. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011), Sapporo, Japan, September 6-10 (2011)
- 山田 守: 耐熱性発酵微生物の検索とその産業応用 第9回バイオテクノロジー国際会議(バイオEXPO) 東京、6月30日—7月2日 2010
- M. Yamada: Collaborative research on development of useful microbial resources in tropical environments with South-East Asian young researchers, Japan-East Asia Network of Exchange for Students and Youths (JENESYS) Programme, Tokyo, 3 Aug.2010
- M. Yamada: Basic research for high-temperature ethanol fermentation on thermotolerant *Kluyveromyces marxianus* DMKU3-1042 the 28th International Specialised Symposium on Yeasts: Metabolic and Bioprocess Engineering for Sustainable Development, 15-18 Sep. 2010
- M. Yamada: Exploration of thermotolerant useful microbes in tropical environments and their application. The 7th Asian Consortium for the Conservation and Sustainable Use of microbial resources, Oct. 13-14 2010.
- 山田 守: アジアの微生物資源の活用、JSPS二国間交流事業 日本—ベトナム共同研究「分解プラスミドの水平伝播を利用したベトナムにおけるダイオキシン汚染土壌の浄化」静岡大学、Dec. 2, 2010

薬師寿治, 松下一信: 酢酸菌の酸化発酵とエネルギー代謝 日本農芸化学会シンポジウム, 2010.3.30

赤田倫治: 高温エタノール発酵、日本農芸化学会シンポジウム、2010.3.30

松下一信: PQQ およびキノプロテイン研究の現状: 生体キノン研究会 第8回講演会、中央大学駿河台記念館 (2009年9月18日)

松下一信・薬師寿治・東 慶直: 酢酸菌の適応進化とその特性を利用した高温酢酸発酵系の開発; 生物工学会シンポジウム「醸造原料植物および醸造微生物の特定とその進化」名古屋大学東山キャンパス (2009年9月25日)

松下一信: 酢酸菌と酸化発酵: その生理学から見えてくる産業利用の新展開; 日本農芸化学会中部支部第157回例会若手シンポジウム「ものつくりの微生物たち—その潜在力を拓く—」平成21年11月14日: 信州大学農学部

M. Yamada: Fermentation technology with thermotolerant microorganisms: Applicable for tropical countries The First Symposium for JSPS - JSPS Fellows Alumni Association of Bangladesh 19 Dec 2009, Bangladesh

【特許】

特願2011-101015 「タイトル非公開」 出願人: 国立大学法人山口大学; 出願日: 平成23年4月28日; 発明者: 赤田倫治, 星田尚司, 中村美紀子

特願2010-57732 「タイトル非公開」 出願人: 国立大学法人山口大学; 出願日: 平成23年3月15日; 発明者: 赤田倫治, 中村美紀子

(上記2つの特許は、研究成果展開事業、研究成果最適展開支援プログラム、若手企業家タイプ「大幅なコストダウンを可能にする哺乳動物細胞の遺伝子発現系の開発とその事業化」総額44604千円に関連するもの)

特願2011-076715 「タイトル非公開」 出願日: 平成23年3月30日 (企業との共同研究; 発明者, 赤田倫治ら)

特願2011-56514 取下げ申請中で海外申請を視野に入れて再出願予定; 出願日: 平成23年3月15日 (企業との共同研究; 発明者, 赤田倫治ら)

特願 2011-42259 「4-ケトーD-アラボン酸、4-ケトーD-アラビノース及びそれらの製造方法」 発明者: 足立収生、薬師寿治、松下一信、ロケ アルベルト アワーズ; 出願人: 山口大学, ナショナルユニバーシティ オブ ラプラタ, 出願日: 2011年2月28日

特願 2010-277477 「外来DNAを挿入しない酢酸菌の遺伝子欠失法」 発明者:薬師寿治, 藤井雅子, 松下一信 出願人: 山口大学, 出願日: 2010年12月13日

特願 2010-072056 「セルロース原料の分離能を有する微生物、及びこれを用いたセルロース原料の分解処理方法」 発明者: 山田守、藤元奈保子 出願人: 山口大学, 出願日: 平成22年3月26日

特願 2010-058917 「クルイベロマイセス・マルシアヌス形質転換体の製造方法」 国立大学法人山口大学, 発明者: 赤田倫治, 星田尚司, アブデル・バナット バビカ モハメド, 浅川潤 出願日: 平成22年3月16日

特願 2010-026682 「クルイベロマイセス・マルシアヌス由来の高発現プロモーター」 国立大学法人山口大学, 発明者 赤田倫治, 星田尚司, 井手政充 出願日: 平成22年2月9日

特願 2010-026679 「サッカロマイセス・セレピシエ由来の特定のプロモーターをクルイベロマイセス・マルシアヌスにおいて用いる目的遺伝子の発現方法」 国立大学法人山口大学, 発明者: 赤田倫治, 星田尚司, 井手政充 出願日: 平成22年2月9日

特願 2010-010340 「ジヒドロキシアセトンの製造方法」 発明者: 羽部浩, 福岡徳馬, 北本大, 榊啓二, 松下一信, 薬師寿治, 阿野嘉孝 出願人: 独立行政法人産業技術総合研究所・山口大学, 出願日: 平成22年1月20日

【その他の外部発信】

K. Matsushita: 2011 Symposium convener “Ecological diversity of acetic acid bacteria aiming at the future applications” XIII international congress of bacteriology and applied microbiology (Sapporo, Japan)

- 松下： 2011 山口大学農学部附属中高温微生物研究センターシンポジウム「地球温暖化対策としての中高温びせいぶつ学の展開を —その原理解明と産業利用—」のオーガナイザー（東京）
- 松下： 2010 シンポジウム「耐熱性発酵微生物の機能解析と高温発酵系の開発」のオーガナイザー 日本農芸化学会 2010 年度大会（東京）
- 赤田：宇部日報 2010年（平成22年）11月30日火曜日第一面 バイオエタノール量産化へ 低コスト，新興国での生産に期待
- 赤田：情報維新！やまぐち 平成23年2月3日（木曜）18：10～19：00山口県内向け放送
- 赤田：おはよう山口 平成23年2月4日（金曜）07：45～08：00 中国地方面向け放送（上記放送時間帯の中で4分程度のVTRが放送される。）
- 赤田：バイオエタノールで新技術 NHK山口放送局，制作石川聡子
- 赤田：サッポロビール バイオエタノール 独自の酵母でコスト削減 サンケイビジネスアイ2011年04月25日
- 赤田：日経バイオweb記事 「山口大学の研究グループ，耐熱性酵母でエタノール8%の連続生産に成功」2010年2月16日
- 赤田：2009年12月19日 日本生物工学会シンポジウム「地球エネルギー戦略—バイオエタノールの現在・未来—」を企画，主催。（日本生物工学会西日本支部：赤田，阿座上，星田）
- 赤田：生物工学会西日本支部の援助を受けて教育用遺伝子組換え実験キットを高校に配布。
- 山田：2011年8月28日 Thailand Research EXPO2011「2nd MEXT-ARDA PROJECT and JSPS-NRCT ASIAN CORE PROGRAM Joint Seminar」を企画
- 山田：2012年8月26日 Thailand Research EXPO2012「3rd MEXT-ARDA PROJECT and JSPS-NRCT ASIAN CORE PROGRAM Joint Seminar」を企画

環境微生物部門

1) 研究活動（概要と今後の方向性）のまとめ

環境微生物門は、高温耐性機構の解明や温室効果ガスの消去と廃棄物からのバイオマス変換技術の開発等、基礎から応用に至る4大課題（ロードマップ対応）8小課題で構成されている。第一に、a)共生に関する大課題では、動物—微生物・藻類共生機構の解明に関しては、単生状態のゾウリムシは高温耐性を欠くことから共生の重要性が明らかであり、これをモデル共生系として、共生成立過程のより詳細な解析が進行中である。植物—細菌共同体による温室効果ガス削減では一定の成果が得られた。ダイズ根粒菌の多重感染機構を推定し、*nosZ* 遺伝子の分布から多重感染と根粒のN₂O代謝を推察した。応用的な側面だけでなくモデル植物を用いた系の確立が望まれる。b) 根面及び土壌微生物の利用に関して、CDU分解菌群が特定の植物病原菌に生育抑制効果を持つことが明らかとなり、その機構についての解析が待たれる。また、新たに小課題を追加し、堆肥施用によるN₂O発生の削減を、好氣的N₂O還元微生物を土壌接種することで達成できることを実験室レベルで示し、今後、スケールアップを目指す。c) 再生可能バイオマスの変換プロセスの研究では、CO₂を炭素源としたアスタキサンチン高生産型微細藻類バイオマスの生産と利用、廃植物資源からのエタノール生産を目指したセルロース分解菌の探索、発酵廃液等からの資源循環型バイオプラスチック（Polyhydroxy-alkanoates, PHA）生産プロセスのラボスケールでの最適化と高温生産過程などを検討し、新奇微生物を利用した物質生産について順次パイロットスケールへの規模拡大が予定されている。加えて、土壌の団粒化を促進する乳酸菌の実用化研究が期待される。d) 温泉藻類を用いたバイオマス生産では、好温型原子藻類の探索と各種ストレス耐性遺伝子の同定が行われ、今後、好温藻類の高バイオマス生産に結びつける予定である。

a) 微生物-動植物共生の成立機構の解明（ゾウリムシとホロスボラおよびクロレラの細胞内共生系成立とストレス耐性機構）および「植物—バクテリアの非特異的共生系成立と脱窒系遺伝子群機能」の解明）

ホロスポラの感染に必須なペリプラズム特異的タンパク質 89K をターゲットとしたモノクローナル抗体を作成すると共に、89K の特徴を推定アミノ酸配列から明らかにした。また、ミドリゾウリムシの共生クロレラが接着する宿主細胞膜直下の標的構造を特定するとともに、トランスクリプトーム解析により、クロレラの有無に依存したミドリゾウリムシ遺伝子の発現変化を明らかにした。これらは、共生系成立あるいは宿主認識の分子機構に迫るものであり、順調に進行している。

好氣的脱窒菌／好氣的 N₂O 還元菌を接種したノシバが、外気中の N₂O を還元することを確認した。経時的な解析には、未だクリアすべき問題が残されている。また、当該微生物が宿主ノシバの適温より高い温度まで増殖可能であることが示され、今後のストレス応答試験への発展が期待される。マメ科植物と根粒菌間の高度に制御されたシグナル交換機構が知られているが、土壌中でのダイズ根粒菌各遺伝型の菌密度の影響という宿主特異性とは異なるステージでの生態学的な要因が多重感染根粒形成に影響を与えることが示唆され、特に土壌中の *Sinorhizobium fredii* の挙動が重要であることが明らかとなった。また、*nosZ* 遺伝子保有率が低い *S. fredii* の多重感染が根粒の N₂O 還元／発生能に影響を与える可能性が示唆されるなど、根粒形成をとりまく環境要因について多面的に研究が進んでいる。

b) 根面拮抗微生物の利用と施肥技術（化学肥料を利用した根面拮抗微生物の発病抑止効果の解析とその施肥技術としての利用）

21～23 年：拮抗微生物の同定と発病抑止効果

24～26 年：特異的基質を利用した施肥技術の開発

「CDU 分解菌による土壌伝染性植物病害の予防」 CDU 系肥料施用による *Rhodococcus* 属を中心とする CDU 分解菌の土壌中での集積と CDU 分解菌間の相互作用について明らかになり、*Rhodococcus* 属全般が生育抑制を及ぼす植物病原菌を明らかにした。また、CDU 系肥料施用歴の異なる圃場でも CDU 系肥料を施用することにより CDU 分解菌が集積されることが明らかとなり、24 年度以降の「特異的基質を利用した施肥技術の開発」の基礎的知見を得た。

「好氣的 N₂O 還元菌を利用した耕地土壌からの N₂O 発生の削減技術」 *P. denitrificans* 96 あるいは *Pseudomonas* sp. CM1 株を活性炭に吸着した資材を非滅菌土壌に投与することで土壌から発生する N₂O フラックスを大幅に削減することに成功した。

c) 再生可能バイオマスの変換プロセス（耐熱性微生物を用いた再生可能バイオマスのハイブリッド型高付加価値変換プロセスの開発）

21～22 年：用微生物のスクリーニング

23～24 年：ラボスケールのプロセス開発

25～26 年：パイロットスケールの実証試験

微細藻類バイオマスの利用：アスタキサンチンを生産する微細藻類の屋外省エネルギー培養法を確立し、培養した藻体を養殖魚に給餌することで、県特産のクルマエビで天然魚に近い色揚げ効果が確認された。アスタキサンチン生産微細藻類については、工業由来炭酸ガスを用いた生理活性物質の生産と応用についてのパイロットスケールの実証試験を前倒して終了した。

セルロース分解菌の探索とエタノール生産への利用：セルロース分解微生物を温帯、亜寒帯および亜熱帯土壌から探索し、酵素分子あたりの活性（比活性）の強さは亜寒帯でも亜熱帯でも大きな違いがないことが示唆された。また、酵母との混合培養可能性について検討し、多くのセルロース分解菌培養上清で酵母が生育することを認めた。

PHA 生産微生物の探索と培養条件の最適化：資源循環型バイオプラスチック（Polyhydroxy-alkanoates, PHA）の生産に関しては、①バイオエタノール排液中のグリセロールを資化して、PHA を生産する菌を同定し、この菌による PHA の生産を最適化する培養条件を把握するとともに、②熱帯地域に産するサゴ椰子デンプンを原料とした Bio-Hydrogen 生産に適する耐熱生菌を、タイ南部の Khongplaypoo 温泉から単離し、この菌による高温域での

PHA の生産を最適化する培養条件を把握し、そのスケールアップに関する基礎的知見を蓄積した。

上記のように、これまで未利用だった微生物バイオマスを産業的に利用する実証研究について、一部年次目標を前倒しする速度で進行している。

また、乳酸菌の 1 種である *Lactobacillus sakei* CY1 を単離し、その細胞外多糖類の生産を最適化する培養条件を把握し、実際に土壤にこの株をを適用した際の土壤の特性変化を把握し、造粒化を促進し土壤の保水機能を向上の観点から有効性を示した。

d) 温泉藻を用いたバイオマス生産（新規温泉藻の探索とそのゲノム解析、並びに温泉藻の有用遺伝資源を用いた高バイオマス生産藻類の作出）

23～24 年：新規有用株の探索とゲノム解読

25～26 年：高バイオマス生産株の作出

新規のイデユコゴメ藻類の探索と採種をおこない、国内各地の温泉から細胞を採種した。その中から、複数株を純化（株化）することに成功し、その中の 1 種、*C. caldarium delta* 株についてはゲノム解析を進めている。

ゲノム既知のシゾン株を用いて、ストレス添加時におけるトランスクリプトームをマイクロアレイによって解析し、ストレス耐性に関わると考えられる複数の候補遺伝子を同定した。これら遺伝子を利用して 25 年度以降の「バイオマス生産株の作出」に供試する予定であり、到達目標に向かい当初目標通り進行している。

2) 外部との連携活動（海外および国内での連携および共同研究）

【海外との連携】

今井

Varavut TANAMOOL 氏（コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科博士課程）が 2009 年 11 月 22 日～2010 年 2 月 27 日に滞在し、PHA 生産菌の分離および同定に関する共同研究を行った。（山口大学農学部附属中高音微生物研究センター経費によるサポート）

ソンポー講師（タクシン大学理学部）が 2009 年 10 月 16 日～11 月 16 日に滞在し、タイ南部の Khongplaypoo 温泉、Romane 温泉、Wat That Nam Ron 温泉からスクリーニングした高温耐性菌群を用いて、スターチを材料とした水素生産に関する共同研究を実施した。（ACP によるサポート）

Jeerasak Pandech 氏（カセサート大学理学部環境科学科修士課程）が 2009 年 10 月 17 日～2009 年 12 月 27 日に滞在し、ファイバーボード排水からの水素発酵の最適化に関する共同研究を行った。（カセサート大学の奨学金によるサポート）

Prapaipid Chairattanamanokorn 講師（カセサート大学理学部）が、2010 年 1 月 16 日～3 月 13 日に滞在し、「高温水素発酵における豚糞の窒素源としての利用」に関する共同研究を行った。（山口大学国際化推進事業「中高温機能性」微生物に関するアジア国際共同研究によるサポート）

Sukusaman Sangyoka 講師（ピブソンクラム地域総合大学科学技術学部）がタイのにより 2010 年 1 月 16 日～3 月 13 日に滞在し「マイクロウェーブとアルカリによる前処理を行ったサトウキビバガスの糖化・水素発酵の同時進行」に関する共同研究を行った。（UMAP (University Mobility in Asia and the Pacific Scholarship) 奨学金のサポート）

Sehanat 講師（チュラロンコン大学植物学部）が 2010 年 10 月 16 日～10 月 29 日に滞在し、「発ガン性が疑われる多環芳香族炭化水素（PAHs）の分解に対するタイでスクリーニングした白色腐朽菌（*Pycnoporus coccineus*）の生産する PAHs 分解性ラッカーゼの適用」に関する共同研究を実施した。（チュラロンコン大学の奨学金によるサポート）

Adilan Hniman 氏（プリンスオブソンクラ大学農産学部博士課程）が 2010 年 11 月 6 日～12 月 5 日に滞在し、「スクリーニングされた高温耐性水素生産菌による水素生産の最適化とヒドロゲナーゼ発現が水素生産に及ぼす影響」に関する共同研究を実施した。

(MEXT-ARDA プログラムによるサポート)

Chakkrit Sreela-or 氏及び Wisarut Suphannafai 氏 (コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科博士課程及び修士課程) が 2010 年 4 月 3 日～5 月 11 日に滞在し、「パイナップル廃棄物からの水素生産条件の把握」「ココア廃棄物廃棄物からの水素生産条件の把握」に関する研究を実施した。(JENESYS プログラムによるサポート)

Alissara 准教授 (コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科) が 2011 年 10 月 17 日～30 日に滞在し、研究打合せを行なった。(ACP によるサポート)

Arunsi Fangkum 氏 (コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科博士課程) が 2011 年 10 月 8 日～12 月 26 日に滞在し、「象の糞より単離した水素発酵菌 *Thermoanaerobacterium Thermosaccharolyticum* の real-time PCR を用いた定量解析」に関する共同研究を実施した。(MEXT-ARDA プログラムによるサポート)

Mullika Teerakun 講師 (イサン・ラジャマンガラ工科大学農産業技術学部) が 2011 年 8 月 1 日～10 月 28 日に滞在し、「活性汚泥の生物膜によるトリクロロエチレンの浄化に関する統計学的手法を用いた最適化」に関する共同研究を実施した。(JENESYS プログラムによるサポート)

Nathaporn Poomipuk 氏 (コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科博士課程) が 2011 年 8 月 1 日～10 月 28 日に滞在し、「新規にスクリーニングされたバイオプラスチック (PHB) 生産菌、*Cupriavidus sp. KKU38* を用いたカッサバスターチからの PHB の生産」に関する共同研究を実施した。(JENESYS プログラムによるサポート)

Prapaipid Chairattanamokorn 講師 (カセサート大学理学部) が 2012 年 1 月 7 日～2 月 20 日に滞在し、「ハイタン (水素+メタン) 生成のためのバガスの利用」に関する共同研究を実施した。(MEXT-ARDA プログラムによるサポート)

Siriporn Dechjaroen 氏及び Papangkon Krewpongsaton 氏 (両名ともカセサート大薬理学部環境科学科修士課程) が 2011 年 11 月の 1 ヶ月間に滞在しバイオ水素生産に関する共同研究を行った。(SS,SV プログラムによるサポート)

大学の修士 2 年の江上拓哉氏、修士 1 年の伊藤圭祐氏、房前大樹氏、4 年生の城一雄輝氏、田中仁氏が 2011 年 8 月、9 月にカセサート大学理学部プラパイピッド研究室に滞在し、バイオ水素生産に関する共同研究を行った。(SS,SV プログラムによるサポート)

Varavut Tanamool 氏 (コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科博士課程) が 2011 年 7 月 16 日～8 月 16 日に滞在し、「*Bacillus aryabhatai* によるバイオプラスチック (PHB) 生産」に関する共同研究を実施した。(MEXT-ARDA プログラムによるサポート)

Panida Rattanapoltee 氏 (コンケン大学テクノロジー学部バイオテクノロジー学科博士課程) が 2011 年 8 月 16 日～9 月 30 日に滞在し、「微細藻類からのバイオディーゼルの生産プロセス」に関する共同研究を実施した (JENESYS プログラムによるサポート)。

海外よりの博士後期課程入学者 (留学生) 2009 年度 4 名, 2010 年度 3 名, 2011 年度 3 名, 2012 年度 2 名

コンケン大学博士後期課程学生の博士論文審査 (Chairman) : 3 件 (2011 年度 1 件、2012 年度 2 件)

客員教授 : 3 件 (Khon Kaen University (2011.5)、Kasetsart University (2011.8)、Chulalongkorn University (2012.6))

横山和平

山口県農林総合技術センターとの共同研究
ジェイカムアグリ (株) との共同研究

三角修己

国立遺伝学研究所、東京農業大学、東京工業大学、立教大学との共同研究で、藻類を用いたバイオマス生産に関する研究を進めている (CREST)

藤島政博

自然科学研究機構基礎生物学研究所共同利用研究：次世代DNAシーケンサ共同利用実験（二次共生成立機構解明のためにミドリゾウリムシの全ゲノム塩基配列の解読）課題番号 11-717：藤島政博（代表）、2011～2012年度
高知大学（児玉有紀助教）、静岡大学（道羅英夫准教授）、基生研（重信秀治特任准教授）、山口大学（藤島政博教授、杉井 学准教授、鈴木治夫特命准教授）の共同研究：ミドリゾウリムシのトランスクリプトーム解析
高知大学（児玉有紀助教）との共同研究：ミドリゾウリムシとクロレラとの細胞内共生成立機構の解析
静岡大学（道羅英夫准教授）、基生研（重信秀治特任准教授）、山口大学（鈴木治夫特命准教授、藤島政博教授）との共同研究：ゾウリムシの小核特異的共生性細菌*Holospora undulate* の全ゲノム塩基配列の解読
European Commission FP-7-PEOPLE-2009-IRSES project "Ciliates as natural reservoir of potentially pathogenic bacteria: an ecological, functional and evolutionary genomic investigation (CINAR PATHOBACTER)" (247658) 藤島政博（日本側代表）、2010～2013 年
Indiana大学(Dr.Tomas Doak)、静岡大学（道羅英夫准教授）、基生研（重信秀治特任准教授）、山口大学（鈴木治夫特命准教授、藤島政博教授）との共同研究：核内共生細菌*Holospora obtusa*のゲノム解析
Indiana大学(Dr.Tomas Doak)、高知大学（児玉有紀助教）、静岡大学（道羅英夫准教授）、基生研（重信秀治特任准教授）、山口大学（杉井 学准教授、鈴木治夫特命准教授、藤島政博教授）との共同研究：ミドリゾウリムシの全ゲノム塩基配列の解読

3) 競争資金の獲得状況

【科学研究費】(順不同)

科学研究費補助金・研究活動スタート支援：三角修己；「極限環境藻類を用いた真核細胞のストレス耐性遺伝子の探索と機能解析」平成 22-23 年度（2,930 千円）
科学研究費・挑戦的萌芽研究 24658063：横山和平；「土壌中の亜酸化窒素還元酵素群の「活性メタプロテオーム」解析」平成 24～26 年度（3,100 千円）
科学省科学研究費・基盤研究 C：藤井克彦（代表）；「微生物を活用した、環境調和型 Waste-to-Energy プロセスの構築」平成 24-28 年, 4,200 千円/5 年
科学研究費・若手研究 B：藤井克彦（代表）；「微生物共生系を活用した、セルロース系廃棄物資源化プロセスの構築」平成 20-23 年, 3,700 千円/4 年
科研費・挑戦的萌芽研究22370082：藤島政博；ゾウリムシで発見された新規感染防御機構の解析：2011～2013年度（3,100千円）
科研費・基盤研究(B)(一般) 23657157：藤島政博；ミドリゾウリムシとクロレラの細胞内共生成立機構の解明：2010～2013年度（14,300千円）

【受託研究費】(順不同)

JST 戦略的創造研究推進事業 CREST <研究領域>「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」平成 23-28 年【研究課題】「高バイオマス生産に向けた高温・酸性耐性藻類の創出」；三角修己（分担）【担当研究題目】「新規有用藻類及び遺伝資源の探索」（55,000 千円）
文科省平成24年度特定研究：藤島政博（代表）「細胞内共生成立の分子機構の解明と新機能細胞の創成」：藤島政博（代表）：2012～2015年度（2012年は34,000千円）
文科省中核的拠点整備プログラム、ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)：藤島政博（代表）「ゾウリムシリソースの収集・保存・提供」：2012～2016年度（2012年は8,977千円）
鹿島学術振興財団研究助成「発展途上国のための養殖池等への新規酸素供給方法の開発」全井剛（2012）1,250 千円

自然科学研究機構基礎生物学研究所共同利用研究：次世代DNAシーケンサ共同利用実験（二次
共生成立機構解明のためにミドリゾウリムシの全ゲノム塩基配列の解読）課題番号
11-717：藤島政博（代表）：2011～2012年度（680千円）
三井物産環境基金研究助成「発展途上国に適用可能な養殖池等への気液接触促進型新規酸素導
入方法の開発」今井 剛（2011）8,814千円（2012）7,134千円
大阪湾広域臨海環境整備センター平成23年度廃棄物・海域水環境保全に係る調査研究費助成
「下水及び余剰汚泥からのリン回収の最適化による海域環境保全に関する調査研究」今井
剛（その1:2011）1,400千円（その2:2012）1,600千円
共同研究：美祢市「美祢市麦川地区坑内水臭気対策に関する研究」今井 剛1,760千円(2011), 500
千円（2012）
共同研究：山口 TLO「臭気原因物質の分離及びグルコマンナン粒子の細粒化による溶解性の改
善方法の開発」今井 剛（2011）473千円
共同研究：山口 TLO「パームオイル工場廃水処理におけるパームオイルの分離回収及び好気性
ラグーンへの酸素付加による排水改善技術の開発」今井 剛（2011）2,768千円
前田記念工学振興財団研究助成「高濃度二酸化炭素溶解水を用いた化学薬品を用いない上水道
用の新規消毒技術の開発」今井 剛（2011）1,000千円
共同研究：美祢市「美祢市麦川地区坑内水調査」今井 剛（2010）100千円
クリタ水・環境科学振興財団研究助成「高濃度二酸化炭素溶解水を用いたオンデマンド型塩素
代替消毒技術の開発」今井 剛（2010）900千円
NEDO 産業技術研究助成；藤井克彦（代表）「新規微細藻類を活用した、環境調和型・アスタ
キサンチン生産法 の開発」平成19-22年, 50,000千円/4年
JFE21世紀財団研究助成「高濃度溶解気体による低コスト・薬品無使用・オンデマンド型飲用
水消毒方法の開発」今井 剛（2009）2,000千円
中国電力技術研究財団試験研究（A）「ゼロ価の鉄を用いたヒ素汚染を受けたダム湖底層水か
らのシンプル・低コストなヒ素除去法の開発」今井 剛（2009）1,600千円
共同研究：協和発酵「余剰汚泥の熱処理による可溶化処理に関する研究 ー特に低中温加温可
溶化による余剰汚泥の資源化ー」今井 剛（2009）1,000千円
日本下水道事業団「平成21年度宇部市酸素供給技術に関する調査補助業務」今井 剛（2009）
4,457千円
成茂動物科学振興基金：原生動物と藻類の細胞内共生成立機構の解明：藤島政博（2009）400
千円

4) 研究業績

【原著論文】(順不同)

2012年

Emma Yuliani, Tsuyoshi Imai and Shintaro Tomita, Potential use of *shochu kasu* to produce
exopolysaccharides from *Lactobacillus sakei* CY1 and their effect on soil aggregation: The 4th
International Conference FerVAAP 2011, Pullman Khon Kaen Raja Orchid Hotel, Khon Kaen,
Thailand, KKU Research Journal (4th FerVAAP edition), 2012. in press
Jantima Teeka, Tsuyoshi Imai, Alissara Reungsang, Xuehang Cheng, Emma Yuliani, Junki Yamaguchi,
Nathaporn Poomipuk, Jiruthakorn Tiantanunkul, Anan Jeenanong, Takaya Higuchi, Kochi
Yamamoto, and Masahiko Sekine, Characterization of Polyhydroxyalkanoates (PHA) biosynthesis
by isolated *Novosphingobium* sp. THA_AIK7 using crude glycerol: *Journal of Industrial
Microbiology and Biotechnology*, 2012. in press
Tuan Van Le, Tsuyoshi Imai, Takaya Higuchi, Ryosuke Doi, Jantima Teeka, Sun Xiaofeng and Mullika
Teerakun, Separation of oil-in-water emulsions by microbubble treatment and the effect of adding
coagulant or cationic surfactant on removal efficiency: *Wat. Sci. Tech.*, 2012. in press
Novi Arfarita, Tsuyoshi Imai, Ariyo Kanno, Tohru Yarimizu, Sun Xiaofeng, Wei JIE, Takaya Higuchi,
Rinji Akada, The potential use of *Trichoderma viride* strain FRP3 in bioremediation of glyphosate
herbicide: *Biotechnology and Biotechnology Equipment Journal*, 2012. in press
Jantima Teeka, Tsuyoshi Imai, Ariyo Kanno, Wei Jie, Alissara Reungsang, Emma Yuliani, Nathaporn

- Poomipuk, Anan Jeenanong, Xuehang Cheng, Takaya Higuchi, Koichi Yamamoto, and Masahiko Sekine, A Characterization of Polyhydroxyalkanoates (PHA) produced by isolated *Novosphingobium* sp. THA_AIK7 using crude glycerol: Effect of initial pH and temperature: *Fresenius Environmental Bulletin*, 2012. in press
- T. Imai, J. Teeka, M. Hirose, T. Higuchi, and M. Sekine, Inactivation of bacteriophages by high levels of dissolved CO₂: X. Cheng, *Environmental Technology*, 2012. in press
- Fujii, K. Process integration of supercritical carbon dioxide extraction and acid treatment for astaxanthin extraction from a vegetative microalga. *Food and Bioproducts Processing* (2012) in press
- Yokoyama, K., Jinnai, K., Sakiyama, Y., Touma, M. Contribution of fungi to acetylene-tolerant and high ammonia availability-dependent nitrification potential in tea field soils with relatively neutral pH. *Applied Soil Ecology* (2012) 62, 37– 41
- Kodama Y., Fujishima M. Cell division and density of symbiotic *Chlorella variabilis* of the ciliate *Paramecium bursaria* is controlled by the host's nutritional conditions during early infection process. *Environmental Microbiology* 14(10), 2800–2811, 2012.
- Kodama Y., Fujishima M. Characteristics of the digestive vacuole membrane of the alga-bearing ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist* 163, 658 - 670, 2012.
- Fujii, K., Oosugi, A., and Sekiuchi, S. Cellulolytic Microbes in the Yanbaru, a Subtropical Rainforest with an Endemic Biota on Okinawa Island, Japan. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (2012) 76, 906-911

2011 年

- Yoshida M, Yoshida Y, Fujiwara T, Misumi O, Kuroiwa H, Kuroiwa T. Proteomic comparison between interphase and metaphase of isolated chloroplasts of *Cyanidioschyzon merolae* (Cyanidiophyceae, Rhodophyta) *Phycol. Res.* 59: 1-15 (2011)
- Ohnuma M., Misumi O, Kuroiwa T. Phototaxis in the Unicellular Red Algae *Cyanidioschyzon merolae* and *Cyanidium caldarium*. *Cytologia* 76 : 295-300 (2011)
- Fujii, K., Kuwahara, A., Nakamura, K., & Yamashita, Y. Development of a simple cultivation method for isolating hitherto-uncultured cellulase-producing microbes. *Applied Microbiology and Biotechnology* (2011) 91, 1183-1192.
- Kodama Y., Fujishima M. Endosymbiosis of *Chlorella* species to the ciliate *Paramecium bursaria* alters the distribution of the host's trichocysts beneath the host cell cortex. *Protoplasma* 248 (2): 325–337, 2011.
- Kodama Y., Inouye I., Fujishima M. Symbiotic *Chlorella vulgaris* of the ciliate *Paramecium bursaria* plays an important role in keeping of the functions of perialgal vacuole membrane. *Protist* 162, 288-303, 2011.
- Jantima Teeka, Tsuyoshi IMAI, Xuehang CHENG, Alissara REUNGSANG, Takaya HIGUCHI, Koichi YAMAMOTO and Masahiko SEKINE, Isolation of PHA-producer capable of using biodiesel by-product glycerol: International Symposium on Southeast Asian Water Environment, Vol.8, pp.344-351, 2010.10.
- Emma Yuliani, Tsuyoshi Imai, Jantima Teeka, Shintaro Tomita, UTILIZATION OF SWEET POTATO-SHOCHU DISTILLERY WASTEWATER AS GROWTH STIMULATING OF *Lactobacillus sakei* CY1: *International Journal of Academic Research*, Vol.3, No.2 (Part II), pp.420-423, 2011.3.
- Emma Yuliani, Tsuyoshi Imai, Takaya Higuchi, Kouichi Yamamoto Lily Montarcih Limantara, NITROGEN LEACHING AND HYDRAULIC CONDUCTIVITY REDUCTION BY ENHANCED GROWTH AND BIOMASS ACCUMULATION OF *Lactobacillus sakei* CY1: *International Journal of Academic Research*, Vol.3, No.2 (Part II), pp.424-428, 2011.3.
- Sompong O-Thong, Adilan Hniman, Poonsuk Prasertsan and Tsuyoshi Imai, Biohydrogen production from cassava starch processing wastewater by thermophilic mixed cultures: *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol.36, No.5, pp.3409-3416, 2011.3.
- Xuehang Cheng, Tsuyoshi Imai, Jantima Teeka, Junki Yamaguchi, Mami Hirose, Takaya Higuchi, Masahiko Sekine, Inactivation of *Escherichia coli* and bacteriophage T4 by high levels of dissolved CO₂, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.90, No.4, pp.1493-1500, 2011.4.
- Emma Yuliani, Tsuyoshi Imai, Jantima Teeka, Shintaro Tomita, Suprayogi, Exopolysaccharides production from sweet-potato *shochu* distillery wastewater by *Lactobacillus sakei* CY1, *Biotechnology and Biotechnology Equipment Journal*, Vol.25, No.2, pp.1-5, 2011.5.

- Rafiani Hasyim, Tsuyoshi Imai, Alissara Reungsang and Sompong O-Thong, Extreme-thermophilic biohydrogen production by an anaerobic heat treated sewage sludge culture: *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol.36, No.14, pp.8727-8734, 2011.7.
- Emma YULIANI, Tsuyoshi IMAI, Jantima TEEKA, Takaya HIGUCHI, Koichi YAMAMOTO and Masahiko SEKINE, Extracellular polysaccharides production by *Lactobacillus sakei* CY1 for soil particle binder: *Journal of Water and Environment Technology*, Vol.9, No.3, 277-287. 2011.9.
- Jantima Teeka, Tsuyoshi Imai, Emma Yuliani, Nathaporn Poomipuk, Anan Jeenanong, Alissara Reungsang, Takaya Higuchi, Kochi Yamamoto, Ariyo Kanno and Masahiko Sekine, Characterization of Polyhydroxyalkanoates (PHA) produced from isolated *Novosphingobium* sp. THA_AIK7 using crude glycerol -effect of initial pH and temperature-: The 20th Korea-Japan Symposium on Water Environment 2011, Daegu, Korea, pp.67-74, 2011.10.
- Rafiani Hasyim, Tsuyoshi Imai, Sompong O-Thong and Liliek Sulistyowati, Biohydrogen production from sago starch in wastewater using an enriched thermophilic mixed culture from hot spring: *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol.36, No.21, pp.14162-14171, 2011.10.
- Optimization of key factors affecting hydrogen production from food waste by anaerobic mixed culture: Chakkrit Sreela-or, Tsuyoshi Imai, Pensri Plangklang and Alissara Reungsang, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol.36, No.21, pp.14120-14133, 2011.10.
- Chakkrit Sreela-or, Pensri Plangklang, Tsuyoshi Imai and Alissara Reungsang, Co-digestion of food waste and sludge for hydrogen production by anaerobic mixed cultures: Statistical key factors optimization: *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol.36, No.21, pp.14227-14237, 2011.10.
- Varavut Tanamool, Tsuyoshi Imai, Paiboon Danvirutai and Pakawadee Kaewkannetra, Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Hydrogenophaga* sp. Isolated from Soil Environment during Batch Fermentation: *Journal of Life Sciences*, Vol.5, No.12, pp.1003-1012, 2011.12.
- Xuehang CHENG, Tsuyoshi IMAI, Mami HIROSE, Yuki JOICHI and Jantima Teeka, Inactivation of bacteriophage in wastewater treatment plant by high level dissolved CO₂ water: The 9th International Symposium on Southeast Asian Water Environment (9th SEAWE), Vol.9 (PartI), pp.407-413, 2011.12.

2010 年

- Minh Thi Nguyen, Kazue Akiyoshi, Masamichi Nakatsukasa, Yuichi Saeki and Kazuhira Yokoyama (2010) Multiple occupancy of nodules by nodulating rhizobia on field-grown soybeans with attendance of *Sinorhizobium* spp. *Soil Science and Plant Nutrition*, 56, 382-389.
- Minh Thi Nguyen, Kazue Akiyoshi, Masamichi Nakatsukasa, Yuichi Saeki and Kazuhira Yokoyama (2010) Development of multiple-occupancy nodules in correlation of the density-dependent infection by soybean nodulating rhizobia. *土と微生物*, 64, 101-106.
- Yoshida Y, Kuroiwa H, Misumi O, Yoshida M, Ohnuma M, Fujiwara T, Yagisawa F, Hirooka S, Imoto Y, Matsushita K, Kawano S, Kuroiwa T. Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science*. 329: 949-953. (2010)
- Sakajiri T, Asano K, Hirooka S, Ohnuma M, Misumi O, Yoshida M, Fujiwara T, Doi S, Kuroiwa H, Kuroiwa T. The overexpression of *Cyanidioschyzon merolae* S-adenosylmethionine synthetase enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Cytologia* 75: 341-352 (2010)
- Fujii, K., Nakashima, H., Hashidzume, Y., Uchiyama, T., Mishiro, K., & Kadota, Y. Potential use of the astaxanthin-producing microalga, *Monoraphidium* sp. GK12, as a functional aquafeed for prawns. *Journal of Applied Phycology* (2010) 22, 363-369.
- Fujii, K., Nakashima, H. & Hashidzume, Y. Isolation of folate-producing microalgae, from oligotrophic ponds in Yamaguchi, Japan. *Journal of Applied Microbiology* (2010) 108, 1421-1429.
- Fujii, K., Sugimura, T., Nakatake, K. Ascomycetes with cellulolytic, amylolytic, pectinolytic, and mannanolytic activities inhabiting dead beech (*Fagus crenata*) trees. *Folia Microbiologica* (2010) 55, 29-34.
- 今井剛・山口淳基・承雪航・Tawan Limpiyakorn, 高濃度気体溶解水による安全・安心な水の殺菌技術, 環境浄化技術, Vol.9, No.1, pp.36-40, 2010.1.
- 今井剛・富田慎太郎・Emma YULIANI・樋口隆哉・関根雅彦, 酵母発酵廃液の圃場への液肥利用の有効性と施肥方法の検討, 用水と廃水, Vol.52, No.2, pp.59-66, 2010.2.
- 今井剛・張振家・承雪航, 中国における飲料系産業排水嫌気性処理の実例紹介, 用水と廃水, Vol.52, No.6, pp.446-450, 2010.6.
- Xuehang Cheng, Tsuyoshi Imai, Junki Yamaguchi, Tawan Limpiyakorn and Alissara Reungsang,

- Evaluation of the Innovated Disinfection Process with High Dissolved CO₂: *Journal of Water and Environment Technology*, Vol.8, No.3, pp.177-184, 2010.9.
- Tsuyoshi Imai, Rafiani Hasyim and Alissara Reungsang, Comparison of biohydrogen production process with extreme-thermophilic with mesophilic anaerobic bacteria, Southeast Asian Water Environment 4, Edited by Kensuke Fukushi, IWA publishing, London, pp.79-84, 2010.9.
- Tsuyoshi Imai, Boyang Li, Alissara Reungsang and Pakawadee Kaewkannetra, Effects of Mineral Nutrients Supply with Bio-waste Compost Applications to Farmland: KKU Research Journal (3rd FerVAAP edition), Vol.15, No.9, pp.818-825, 2010.9.
- Jie WEI, Tsuyoshi IMAI, Takaya HIGUCHI, Koichi YAMAMOTO and Masahiko SEKINE, Biological phosphorus and organic matter removal by using high pressured pure oxygen: The 19th Japan-Korea Symposium on Water Environment 2010, Hiroshima, Japan, pp.71-78, 2010.10.
- Han, J., Xie, L.-Y., Zhu, T., Xu, C.-H., Imai, T., Xie, Y.-H. and Jiang, J., Disintegration of excess sludge by high speed rotary disk and anaerobic digestibility of its disintegrated sludge: *Huaxue Gongcheng/Chemical Engineering*, 38, 10, pp.90-95, 2010.10.
- 山口淳基・承雪航・今井剛・樋口隆哉・関根雅彦・山本浩一, 高濃度二酸化炭素溶解水を用いた水の殺菌・殺ウイルス技術の開発に関する研究:環境工学研究論文集, Vol.47, pp.651-658, 2010.11.
- 坂本和隆・今井剛・中野陽一・中井智司・西嶋 渉・岡田光正, 放水が河口域干潟生態系の構造に与える影響:環境工学研究論文集, Vol.47, pp.23-30, 2010.11.
- Jantima TEEKA, Tsuyoshi IMAI, Xuehang CHENG, Alissara REUNGSANG, Takaya HIGUCHI, Koichi YAMAMOTO and Masahiko SEKINE, Screening of PHA-producing bacteria using Biodiesel-derived waste glycerol as a sole carbon source: *Journal of Water and Environment Technology*, Vol.8, No.4, pp.373-381, 2010.12.

2009 年

- Kodama Y., Fujishima M. Localization of perialgal vacuoles beneath the host cell surface is not a prerequisite phenomenon for protection from the host's lysosomal fusion in the ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist* 160 (2), 319-329, 2009.
- Kodama Y., Fujishima M. Timing of perialgal vacuole membrane differentiation from digestive vacuole membrane in infection of symbiotic algae *Chlorella vulgaris* of the ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist* 160 (1), 65-74, 2009.
- Cyanide removal from cassava mill wastewater using *Azotobacter vinelandii*, TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment system: P. Kaewkannetra, T. Imai, F.J. Garcia-Garcia and T.Y. Chiu, *Journal of Hazardous Materials*, 172(1), pp.224-228, 2009.12.
- Resource recovery from excess sludge for control of global warming -Development of high efficient methane recovery process from excess sludge by high speed rotary disk-: Tsuyoshi IMAI, Jin HAN, Tong Zhu, Takaya HIGUCHI and Masahiko SEKINE, International Symposium "Toward a Sustainable Low Carbon Society -Green New Deal and Global Change-", pp.221-229, 2009.11
- 植木真吾・関根雅彦・樋口隆哉・今井剛, 室内実験と現地調査による環境保全型ブロックの魚類保全効果の検討:環境工学研究論文集, Vol.46, pp.9-20, 2009.11.
- Weili Zhou, Tsuyoshi Imai, Masao Ukita, Characteristics of thermophilic granulation processes in UASB reactors: World Review of Science, Technology and Sustainable Development (WRSTSD), vol.6, No.2/3/4, pp.156-165, 2009.12.
- Q. Zhang, T. Higuchi, M. Sekine and T. Imai, Removal of sulphur dioxide using palygorskite in a fixed bed absorber: *Environmental Technology*, Vol.30, No.14, pp.1529-1538, 2009.12.

【著書・総説・その他】(順不同)

- Schweikert M., Fujishima M., Görtz H.-D. Symbiotic associations between ciliates and prokaryotes. In, The Prokaryotes, 4th Edition, (Eds) Rosenberg E., DeLong E. F., Thompson F., Lory S., Stackebrand E., Quinones D., Springer Publishing, in press.
- Fujishima M., Kodama Y. Endosymbionts in *Paramecium*. *European Journal of Protistology*, 48, 124-137, 2012.
- 今井 剛: アジア巨大都市-都市景観と水・地下環境 (共著), pp.70-71, 76-77, 発行新泉社, 2011.
- 今井 剛: アジアの都市と水環境 (共著), pp.158-166, 発行古今書院, 2011.

- 今井 剛: Transfer - Advanced Aspects (ISBN 978-953-307-636-2) (共著), Chapter 15, Improvement of Oxygen Transfer Efficiency in Diffused Aeration Systems Using Liquid-Film-Forming Apparatus, pp.341-370, 発行InTech, November 2011.
- 徳永信之介・今井 剛, 下水処理における省エネ曝気技術の開発, 山口環境ネットワーク最終シンポジウム講演論文集, pp.40-47, 2011.7.
- Kodama Y., Fujishima M. Four important cytological events needed to establish endosymbiosis of symbiotic *Chlorella* sp. to the alga-free *Paramecium bursaria*. Japan Journal of Protozoology 44 (1), 1-20, 2011.
- Kodama Y., Fujishima M. Chapter 2. Secondary symbiosis between *Paramecium* and *Chlorella* cells. In, "International Review of Cell and Molecular Biology", (Ed) Jeon K. W., Vol. 279, pp. 33-77, Elsevier Inc. San Diego, Burlington, London, Amsterdam: Academic Press, 2010.
- Kodama Y., Fujishima M. Induction of secondary symbiosis between the ciliate *Paramecium* and the green alga *Chlorella*. In, "Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology", (Ed) Antonio Mendez Vilas, Vol. 1, pp. 95-102, Formatex Research Center, December 2010. ISBN (13): 978-84-614-6194-3
- Kodama Y., Fujishima M. Elucidation of establishment of secondary endosymbiosis as a driving force for biodiversity. Proceedings of Infrastructure & Environmental Management Symposium in Yamaguchi 2010 (4), pp. 1-39, 2010. ISBN4-9901161-9-4 C3069.
- 今井 剛: Environmental Bioengineering (共著), pp.75-163, Humana Press, 2010.
- 三角修己 「シズンゲノムを遺伝資源とした有用植物作出の試み」 生物工学会誌 第88巻9号 p468-472 (2010)
- 今井 剛・張振家・承雪航, 中国における飲料系産業排水嫌気性処理の実例紹介, 用水と廃水, Vol.52, No.6, pp.446-450, 2010.6.
- 今井 剛, 泡を利用した省エネルギー技術の開発 ～水の浄化でも温暖化対策～, 常盤, No.65, pp.29-30, 2010.7.
- Tsuyoshi IMAI, Liquid film enhancer to improve oxygen supply efficiency: Swage Works in Japan 2010, -Japan's challenges to mitigate global warming in sewage works- p.19, 2010.10.
- 今井 剛, 嫌気性微生物を利用した食品廃棄物からの有価物回収技術と最新研究, 産業と環境, Vol.39, No.11, pp.77-80, 2010.11.
- Fujishima M. Chapter 8. Infection and maintenance of *Holospira* species in *Paramecium caudatum*. In, "Endosymbionts in *Paramecium*". Microbiology Monographs Vol. 12, (Ed) Fujishima M., Springer Dordrecht Heidelberg London New York, pp. 201-225. 2009. ISBN 978-3-540-92676-4
- Kodama Y., Fujishima M. Chapter 2. Infection of *Paramecium bursaria* with symbiotic *Chlorella* species. In, "Endosymbionts in *Paramecium*". Microbiology Monographs Vol. 12, (Ed.) Fujishima M., Springer Dordrecht Heidelberg London New York, pp. 31-55, 2009. ISBN 978-3-540-92676-4
- Fujii, K. Isolation of Pollutant-Degrading Microbes from a Sewage Treatment Plant. In Anna Stephens and Mark Fuller Ed. *Sewage Treatment: Uses, Processes and Impact*. (2009) pp. 155-172. Nova Science Publishers, NY.
- 今井 剛, 発展途上国への適用を目指した塩素消毒を用いない高濃度気体溶解水による安全・安心な水の殺菌技術の開発: 山口大学環境保全, No.25, pp.28-32, 2009.12.
- Tonooka Y., Fujishima M. Comparison and critical evaluation of PCR-mediated methods to walk along the sequence of genomic DNA. Mini-Review, Applied Microbiology and Biotechnology. Springer, 85, 37-43, 2009.

【特許】

- 藤井克彦. 「微生物の分離方法 (特願 2011-134893)」 平成 23 年 6 月 17 日
- 今井 剛: 特願2011-237959「油水分離装置とそれを備えた廃水処理システム」出願人: 国立大学法人山口大学出願日: 2011年10月28日

【招待講演】(順不同)

- Fujishima M. New insights into the *Paramecium-Holospira* and *Paramecium-Chlorella* symbioses. International Wendlandian Symposium, Lüchow, Germany, Sep. 10-14, 2012.
- Fujishima M., Iwatani K., Kawai M., Nakamura Y., Kodama Y., Tanaka K., Fujise H., Morikawa C., Kaya T., Abamo F. Infection of endonuclear symbiotic bacterium *Holospira* to the ciliate

- Paramecium caudatum*. 1st Asian Congress of Protistology and 8th Asian Conference of Ciliate Biology, Jeju University, Korea, Oct. 3–6, 2011.
- Fujishima M. Plenary lecture. Endosymbiosis in *Paramecium*. 6th European Congress of Protistology, Free University Berlin, Germany, July 29, 2011.
- 三角修己・黒岩常祥 「シゾンのポストゲノム研究の展開と今後の展望」 NBRP藻類シンポジウム (2011年1月29日、東京)
- Fujishima M. Secretion of the 63-kDa periplasmic protein of the infectious *Holospira obtusa* during infection and a possible function of the protein. GDRE Meeting *Paramecium* and its symbionts. 5th *Holospira* conference. Pisa University, Italy, Sept. 5, 2010.
- Kodama Y. and Fujishima M. Endosymbiosis between the ciliate *Paramecium* and the green alga *Chlorella*. Symposium on symbiosis. The 43th Annual Meeting of the Japan Society of Protozoology, Ibaraki University, Nov. 7, 2010 (in Japanese).
- Kodama Y. and Fujishima M. Elucidation of establishment of the secondary endosymbiosis as a driving force for biodiversity. The 14th Infrastructure and Environmental Management Symposium in Yamaguchi 2010, Yamaguchi University, Nov. 12, 2010 (in Japanese).
- Fujishima M. Symposium organizer on “Symbiosis and Evolution” and its speaker on "Infection of *Holospira* and acquisition of stress resistance of the host *Paramecium*". 13th International Congress of Protistology, Busios, Rio de Janeiro, Brazil, Aug. 27, 2009.
- Tsuyoshi IMAI, Jin HAN, Tong Zhu, Takaya HIGUCHI and Masahiko SEKINE, Resource recovery from excess sludge for control of global warming -Development of high efficient methane recovery process from excess sludge by high speed rotary disk-:北海道大学サステイナビリティ・ウィーク 2009, 国際シンポジウム「持続可能な低炭素社会を目指して」ーグリーン・ニューディールとグローバルチェンジャー, 北海道大学, 2009.11

【その他の外部発信】

- 藤島政博：学長裁量経費と理学部長裁量経費で実施していた「遺伝資源ゾウリムシの収集・保存・提供」の社会貢献活動が、2012年6月からは、文科省の中核的拠点整備プログラムのナショナルバイオリソースプロジェクト「ゾウリムシリソースの収集・保存・提供」として山口大学を機関校として実施することになった（5年継続）。
- 藤島政博：AERA これからは競争ではなく共生社会をめざすべきではないでしょうか、福岡伸一著、藤島の研究を紹介、2011年5月23日
- 藤島政博：（第5回国際2匹目のどじょう賞、環境部門 輝り賞）藤島政博、2010年10月
- 藤島政博：（日本原生動物学会奨励賞）児玉有紀（藤島研学振PD）、2009年11月

病原微生物部門

1) 研究活動（概要）のまとめ

「One World, One Health」(マンハッタン宣言)は全てが健康(正常)でなければ、ヒトの健康は得られないことを宣言している。地球環境、生態系、畜産、農業などあらゆるものは密接に関連しあっており、全てを正常に保つことが重要である。本部門では、それらを脅かす病原微生物を対象に研究を実施し、その成果を社会に発信・還元することを目的としている。

具体的には、以下に示す6つの研究分野からなっている。「中高温地域での植物病原微生物の同定とその遺伝子診断技術の開発」では植物の病原因子の解析、「コウモリを自然宿主とする新興・再興ウイルス感染症の出現予測とその情報発信」では東南アジアに生息するオオコウモリから由来する新興・再興ウイルス感染症の解析、「レトロウイルスの変異と進化：新たなウイルス出現と病原性発現機構の解析」では生物の進化に重要な役割を果たしてきたレトロウイルスの進化に関する研究、「食品由来感染症の感染ルートの解明とその情報発信」では食中毒の原因となる病原菌の解析と診断、「病原微生物の感染機構の解明」では東南アジアを中心に猛威をふるう日本脳炎ウイルスを中心とした病原微生物の感染機構の解明、「中高温地域の動物寄生体の種多様性の解明と野生動物保全への貢献」ではアジアを中心とした寄生虫の進化とその多様性を研究することにより、感染症の動態（拡がり・経路）を解明する。

本部門の特徴は、アジアとの連携を視野に入れた熱帯地域における病原微生物の総合的対策を行えることである。動物ウイルス・植物ウイルス・食品媒介寄生虫・食品媒介細菌・食品媒介ウイルス・病原性細菌・マイコプラズマなどの幅広い病原体を対象として、新規病原因子の同定、流行予測、感染経路の解明、病原発現機序の解明、微生物を含む生物の進化の解明を行う。

本部門で得られた成果を総合的に議論し社会へ還元できるのは、多彩な病原体を幅広い視野から解析できる本研究分野の特徴である。

a) 中高温地域での植物病原微生物の同定とその遺伝子診断技術の開発

西南暖地の葉ネギや北海道のタマネギ栽培地で夏季に多発している枯死の原因病原体が *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* および *F. solani* であることを明らかにした（ロードマップ：植物病原菌の同定と診断技術）。また、ネギ属植物に感染する土壌伝染病原菌の rDNA 塩基配列を解析し、これらの菌を同時に複数種検出できるマクロアレイを開発した（ロードマップ：植物病原菌の同定と診断技術）。このほか、砂漠や熱帯地域の高温環境下で生育する植物の病原微生物の同定を行うとともに、抗菌物質生産やストレス耐性機構について調査した。

b) コウモリを自然宿主とする新興・再興ウイルス感染症の出現予測とその情報発信

コウモリを自然宿主とするウイルスについて、極端ではあるが下記のような考え方をしている。ヘルペスウイルス科だけをみてもヒトに病気を引き起こすウイルスはヒトの口内炎や脳炎の原因であるヒト単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)、性病の原因である 2 型(HSV-2)、水疱瘡の原因である帯状疱疹ウイルス(VZV)などの 8 種類が知られている。ヒトは哺乳類の 1 種であり、他の哺乳類にも同様の数だけヘルペスウイルスが感染していると仮定すると翼種目は 1116 種(Mammal Species of the World、第 3 版)存在することから約 9000 種類のヘルペスウイルスが存在する計算になる。そのうちの多くは翼手目にしか感染しないと考えられるが、サルからヒトに感染する B ウイルス、ヒツジから偶蹄類やブタに感染する悪性カタル熱、ブタから様々な動物に感染するオーエスキー病などのように異種に感染して致死的となるウイルスもあるかもしれない。すなわち、それぞれの動物種がそれぞれ数多くのウイルスの自然宿主となっており、そのうちのいくつかはヒトや他の動物に感染する感染症になりうる可能性を持っていると考えるのが妥当である。

前述したように、コウモリは 1116 種存在する。これは、齧歯類の 2277 種に次いで多く、哺乳類の約 5 分の 1 を占める。当然、コウモリを自然宿主とするウイルスも多いことになる。ちなみに日本産哺乳類 120 種のうち齧歯目が 28 種であるのに対して、翼手目は 38 種存在している。我々はコウモリを含む野生動物がもつウイルスを知ることがを目的として、ウイルス検査の基本となる培養細胞株ライブラリーの構築を試みた。現在、コウモリ由来の培養細胞としてはキクガシラコウモリとユビナガコウモリの小翼手亜目、ヤエヤマオオコウモリ、インドオオコウモリ、エジプトルーセットオオコウモリの大翼手亜目の計 5 種類の樹立に成功した。また、その培養細胞樹立の際にキクガシラコウモリとユビナガコウモリからそれぞれ γ ヘルペスウイルスと β ヘルペスウイルスの分離に成功した。また、ヤエヤマオオコウモリからはアデノウイルスの分離にも成功した。当時ウイルス分離後の同定は困難であったが、水谷ら(2007)が開発した rapid determination system for viral RNA sequences (RDV)法を実施することにより、急速にウイルスを同定することができた。まだ、氷山の一角ではあるが、コウモリのみならず野生動物を自然宿主とするウイルスの分離と同定を継続している。“未知のウイルス”を“既知のウイルス”とすることにより新興感染症の発生予測と診断・予防法の開発を目指している。

更には、コウモリは“空飛ぶ哺乳類”であることから、感染症を拡大することも懸念されている。我々は、本道を中心としてニパウイルスを保有しているライルオオコウモリがどれだけ飛翔するかを現在調査中である。

c) レトロウイルスの変異と進化：新たなウイルス出現と病原性発現機構の解析

レトロウイルスは、それら固有の宿主であるヒトや動物に感染すると、リンパ腫、白血病、

骨髄異形成症候群、神経疾患、免疫不全あるいは再生不良性貧血など様々な悪性疾患を引き起こす。これら病気を引き起こすメカニズムについてウイルス側の要因や宿主側の要因が存在する。本研究プロジェクトではゲノムバイオロジー、セルバイオロジーおよびレトロウイルス学を基盤とした解析を行うことによりそれらの要因を明らかにし、ウイルスの病原性獲得あるいは病原性発現メカニズムを分子レベルで明らかにする。さらに、レトロウイルスの起源や進化についての検討を行い、新たなウイルスの出現機構を明らかにする。これらの研究からレトロウイルス感染症の治療法や予防法の開発に繋げたい。

d) 食品由来感染症の感染ルートの解明とその情報発信

食品の中でも畜産物に混入が懸念されるリステリア、ブルセラ等の細胞内寄生菌に注目して解析を行った。乳汁中に含まれるこれらの細菌は、経口的にヒトおよび動物に摂取され、流産・不妊を引き起こす。宿主の胎盤における菌の増殖およびその結果誘導される免疫応答が流産を引き起こす原因であることが明らかとなった。また、妊娠マウスを用いた流産モデルを構築し、分子レベルで病態解析を行った。胎盤中の標的細胞である栄養膜巨細胞への菌感染に関与する受容体の同定、宿主細胞のアポトーシス誘導機構などを明らかにした。今後、他の食品由来病原細菌についても感染ルートおよび感染機構の解明を行う。

最近、生食用生鮮食品を共通食とする病院物質不明の食中毒有症事例が無視できないほどに国内での発生件数が多くなってきている。その原因病原体究明が国立食品医薬品衛生研究所衛生微生物部を中心として取り組まれる中で、私らの研究室でヒラメから分離、種記載を行った *Kudoa septempunctata* が、生鮮ヒラメを共通食とする食中毒の原因と特定されるに至った。このことを受けて、2011年6月7日付け食安0617第3号で正式な食中毒原因として *K. septempunctata* は認知され、食中毒の原因として行政が対応するように通知された。*Kudoa* 属あるいは粘液胞子虫は未解明な部分が大きく、また、形態学的な類似性が高い生物群であり、その種診断基準の確立が大きな課題となっている。食中毒に対応する行政部門と共同して、現場と基礎研究を結ぶ取組を展開している。また、*Kudoa* 属を含めた粘液胞子虫2,200余種のうち、生活環が解明されている種は30余種であり、食中毒原因となる *Kudoa* 属80余種については全く未解明である。この解明に向けた取組は、食中毒原因を生鮮食品に混入させない予防学的見地から必要性が高く、現在の大きな研究課題となっている。

e) 病原微生物の感染機構の解明

日本脳炎ワクチン未接種馬から分離された日本脳炎ウイルス JEV/eq/Tottori/2003 株の全塩基配列の決定とマウスにおける病原性解析を行った。塩基配列および病原性はいずれも遺伝子型 I の典型的なものであることが明らかとなり、ワクチン接種の重要性が再確認された。日本脳炎ウイルスの感染機構の分子レベルでの解析に取り組んだ。C型レクチンファミリーの各分子を発現させた細胞における日本脳炎ウイルスの増殖性等を調べ、少なくとも DC-SIGN, DC-SIGNR, LSECtin 分子を発現している細胞、すなわち樹状細胞や肝類洞内皮細胞に日本脳炎ウイルスが良く感染しうると考えられた。今後は C型レクチン以外の分子の効果や他の細胞への感染機構を調べていく。

歯周病関連細菌 *Eikenella corrodens* の口腔内への感染について、解析を行った。その結果、フェージ感染を介してゲノム再編が起こり、増殖能、付着能、バイオフィーム形成能、炎症性サイトカイン誘導能が上昇し、高病原化することがわかった。さらに、本菌がクオラムセンシングを介したバイオフィーム制御に、オートインデューサー分解酵素の存在が示唆された。この酵素を介して本菌の感染が複雑に制御されていることが考えられた。今後は、口腔細菌叢における本菌の定着機構や、他の細菌とのコミュニケーションを明らかにしていきたい。

f) 中高温地域の動物寄生体の種多様性の解明と野生動物保全への貢献

野生動物と人の生活圏が近くなり、野生動物から人へ、あるいは、野生動物と家畜相互の感染症伝播が大きな関心を集めている。私たちの研究室では、野生動物がもつ寄生虫について遺伝型レベルでの解析を進め、同一自然環境に棲息する異なる野生動物あるいは家畜の間

での感染症伝播の実際を解明しようと取り組んでいる。同一種内の遺伝子型多様性を通し、国内分布する寄生虫の国内侵入の経路や地理的な分布の特性との関連を考察し、感染症の動態を把握することを目的としている。

2) 外部との連携活動（海外および国内での連携および共同研究）

名古屋大学、東京大学、国立感染症研究所、フィリピン大学、カセサート大学とのコウモリ由来ウイルス感染症の共同研究。

下関市と野生動物が保有するE型肝炎ウイルスに関する共同研究。

北里大学、予防衛生研究所、帯広畜産大学、日本獣医生命科学大学等と野生動物由来人獣共通感染症の共同研究。

千葉科学大学、東京大学、国立感染症研究所と高病原性鳥インフルエンザウイルスに関する共同研究。

韓国慶尚大学とウシのブルセラ症の疫学調査、理化学研究所と腸管粘膜におけるブルセラ感染についてそれぞれ共同研究を行った。

エジプトの South Valley University から、F. Abdel-Motaal 氏を受入れ、高温・乾燥環境下で生育する植物に寄生する微生物の分類およびストレス耐性に関する研究を実施した（2009.9～2010.3）

エジプトの South Valley University から、JSPS 外国人特別研究員として M. A. El-Sayed 博士を受入れ、高温・乾燥環境下で生育する植物に寄生する微生物の抗菌物質生産に関する研究を実施した（2009.9～2010.3）。

ベトナムの Soils and Fertilizers Research Institute から、Le Thi Thanh Thuy を招聘し、セミナーを開催するとともに、ネギ属植物病原菌の分離・同定技術の研修を実施した（2010.3.9～23）。

インドの University of Mysore から、JSPS 外国人特別研究員として S. Jogaiah 博士を受け入れ、高温環境下で生育する植物に寄生・共生している微生物の分類および抗菌物質生産誘導機構に関する共同研究を実施した（2011.5～継続中）。

ドイツの P. Franken 教授（Leibniz-Institute of Vegetable and Ornamental Crops）およびインドの M. B. Shivanna 教授（Kuvempu University）と、高温環境下で生育する植物に共生している微生物の分類および抗菌物質生産誘導シグナルに関する共同研究を実施した（2011.7～継続中）。

エジプト政府奨学金(Channel System)によるエジプトからの大学院学生(Kafrelsheikh University、South Valley University)の受入が3名、JENESYS助成によるフィリピンからの研究者(Regional Integrated Coastal Resource Management Center, Davao Oriental State College of Science and Technology)受入が1名あり、今後とも共同研究を進めていく。また、論博事業(JSPS)によりベトナムの国立機関(Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology)からの1名の研究者受入と共同研究推進を行っている。また、学部間学術交流協定を締結しているネパールのInstitute of Agriculture & Animal Science (IAAS), Tribhuvan UniversityならびにFaculty of Agricultural and Food Sciences, University of West Hungaryの研究者との学術交流を維持している。

国内では、国立医薬品食品衛生研究所病原微生物部、麻布大学獣医学部病理学研究室等との連携および共同研究を進めている。

大阪大学大学院歯学研究科との2件の共同研究（科研）

3) 競争資金の獲得状況

【科学研究費】(順不同)

科研費補助金、基盤研究(B)前田 健(代表)、下島昌幸(分担):「イヌジステンパーウイルス宿主域拡大因子の解明とその制御」(2012-2014)11,900千円(課題番号24380166)

科研費補助金、挑戦的萌芽研究前田 健(代表)、下島昌幸(分担):「高感度ウイルス検出細胞の樹立」(2012-2013)3,100千円(課題番号24658257)

科研費・若手研究(B)23780294、下島昌幸(代表)「日本人による日本脳炎の完全コントロー

ルに向けて」2011年度～2012年度(3,550千円)
科研費・基盤研究(C)(2010～2012年度) 22580349、佐藤 宏(代表)「美麗食道虫症の自然伝播に影響する寄生虫の生物学的要因と宿主の生態学的要因の研究」
科研費補助金、基盤研究(C)前田 健(代表)：「ウイルスの異種間伝播による感染拡大要因の解明とその制御」(2009-2011)3,800千円
厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) 前田 健(分担)：「動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究」(H24-新興-一般-006)(2012-2014)3,000千円
厚生労働科学研究費補助金 佐藤 宏(分担)「生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒の発症機構の解明」H23-食品-一般-007
科研費補助金、基盤研究(C)岩田祐之(代表)・前田 健(分担)：「難治性病態における急性期蛋白質鎖修飾モデルのトランスレーショナル研究の新展開」(2012-2014)4,200千円(課題番号 24580461)
厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業) 前田 健(分担)：「野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究」平成23年度(2011-2014)3,200千円(H23-食品-一般-008)
科研費補助金、基盤研究(B)(海外)本道栄一(代表)・前田 健(分担)・水野拓也・竹松葉子：「コウモリを自然宿主とする新興・再興ウイルス感染症の出現予測」(2008-2012)
科研費・基盤研究(C)22580333：度会雅久(代表)；胎盤における自然免疫応答と流産の分子メカニズム：2010年度(1,400千円)
厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)前田 健(分担)：「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究」平成20-22年度(2008-2010)5,900千円
科研費・基盤研究(C)23580063：伊藤真一(代表)；タマネギ乾腐病菌が生産するファイトトキシン様タンパク質：2011～2013年度(3,900千円)
科研費・基盤研究(C)22580033：執行正義(代表)・伊藤真一(分担)：倍加半数体システムを利用したネギ属高精度染色体地図の開発：2010～2012年度(3,600千円)
科研費補助金、基盤研究(B)24380139：荊木康臣(代表)・伊藤真一(分担)・荒木英樹：苗生産における光環境制御による病害防除：2012～2013年度(9,200千円)
特別研究員奨励費(外国人)23・01086 伊藤真一(代表)；トマト誘導全身抵抗性におけるエリクターと信号伝達経路の同定：2011～2012年度(1,600千円)
特別研究員奨励費(外国人)20・098096 伊藤真一(代表)；ネギ異種染色体添加系統の抗菌物質および転写産物のプロファイリング：2008～2009年度(1,600千円)
科研費・基盤研究(B)22380168：西垣一男(代表)：「ネコレトロウイルスの変異と進化：新たなウイルス出現と病原性発現機構の解析」平成22-24年度、15340千円
科研費・基盤研究(C)(2007～2009年度)19580355 佐藤 宏(代表)「動物を固有宿主とする糞線虫種は人獣共通寄生虫症の原因となるのか？」
科研費・基盤研究(C)(2010～2012年度)22580087 阿座上弘行(代表)、「ゲノム再編によるバクテリアの高病原化に関する研究」
科研費・基盤研究(A)(2009～2011年度)20249076 阿座上弘行(分担)、「難治性根尖性歯周炎に関わるバイオフィルムの遺伝子工学的抑制法と科学的診断法の開発」
科研費・基盤研究(B)24390424(2012～2014年度) 阿座上弘行(分担)、「実験病理学的難治性根尖性歯周炎モデルの開発とその化学的制御法の検討」

【受託研究費】(順不同)

岩田祐之(代表)、前田 健(分担)、下島昌幸(分担)：「細胞不死化技術を用いた有用細胞作製に関する研究」安全性評価技術研究所、3,400千円(2012-2013)
前田 健(代表)：ウマヘルペスウイルス1型および4型抗体測定用ELISA法の開発。日本中央競馬会競走馬総合研究所。8,000千円(2010-2013)
前田 健(代表)：野生獣イノシシ・シカのE型肝炎ウイルス感染調査。下関市。641千円(2009-2011)
前田 健(代表)：「帯電微粒子水(ナノイー)によるウイルス失活化検討に関する研究」パナ

ソニック電工株式会社、1,000千円（2011）
伊藤真一（代表） 独立行政法人科学技術振興機構（代表）AS231Z02122E；抗菌物質資源としてのネギ生ごみの利用：2011年度（1,180千円）
伊藤真一（代表） 独立行政法人科学技術振興機構（代表）ユリウイルス病の被害を防止する弱毒ウイルスの研究；2009年度（1,000千円）

【グローバルCOE研究費】

伊藤真一（事業推進担当者）日本学術振興会グローバルCOEプログラム事業「持続性社会構築に向けた菌類きのご資源利用」2008～2012年度（7,000千円）

4) 研究業績

【原著論文】(順不同)

2012年

- Noguchi K, Shimoda H, Terada Y, Shimojima M, Kohyama K, Inoshima Y, Maeda K*. Isolation of a novel herpesvirus from a Pacific white-sided dolphin. *Archives of Virology* (In press)
- Shimoda H, Inthong N, Noguchi K, Terada Y, Nagao Y, Shimojima M, Takasaki T, Rerkamnuaychoke W, Maeda K*. Development and application of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for serological survey of Japanese encephalitis virus infection in dogs. *Journal of Virological Methods* (In press)
- Shimojima M, Kawaoka Y. Cell surface molecules involved in infection mediated by lymphocytic choriomeningitis virus glycoprotein. *J Vet Med Sci*, in press
- Hashino, M., Kim, S., Tachibana, M., Shimizu, T., Watarai, M. Vertical transmission of *Brucella abortus* causes sterility in pregnant mice. *J. Vet. Med. Sci.* in press
- Nakato, G., Hase, K., Suzuki, M., Kimura, M., Ato, M., Hanazato, M., Tobiume, M., Horiuchi, M., Atarashi, R., Nishida, N., Watarai, M., Imaoka, K., Ohno, H. Cutting Edge: *Brucella abortus* exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. *J. Immunol.* in press
- Murali, M., Sudisha, J., Amruthesh, K. N., Ito, S., Shetty, H. S. Rhizosphere fungus penicillium chrysogenum promotes growth and induces defence-related genes and downy mildew disease resistance in pearl millet. *Plant Biology* (2012), published online DOI: 10.1111/j.1438-8677.2012.00617.x
- Anai Y, Ochi H, Watanabe S, Nakagawa S, Kawamura M, Gojobori T, Nishigaki K. Infectious Endogenous retroviruses in cats and emergence of recombinant viruses *J Virol.* 2012 in press.
- Sultan K, Omar M, Makouloutou P, Kaneshiro Y, Saita E, Yokoyama M, Suzuki K, Hosoi E and Sato H* : Molecular genetic conspecificity of *Spiculopteraigia houdemeri* (Schwartz, 1926) and *S. andreevae* (Drózdź, 1965) (Nematoda: Ostertagiinae) from wild ruminants in Japan. *J Helminthol* (in press).
- Makouloutou P, Setsuda A, Yokoyama M, Tsuji T, Saita E, Torii H, Kaneshiro Y, Sasaki M, Maeda K, Une Y, Hasegawa H and Sato H* : Genetic variation of *Gongylonema pulchrum* from wild animals and cattle in Japan based on ribosomal RNA and mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I genes. *J Helminthol* (in press).
- Hasegawa H*, Sato H, Suzuki K and Kaneshiro Y : *Skrjabinema kamosika* sp. n. (Nematoda: Oxyuridae) collected from Japanese serow, *Capricornis crispus*, (Mammalia: Bovidae) of Japan. *J Parasitol* (in press).
- Thinh CN, Li Y-L, Makouloutou P, Jimenez LA and Sato H* (2012): *Posthodiplostomum* sp. metacercariae in the trunk muscle of northern snakeheads (*Channa argus*) from the Fushinogawa River, Yamaguchi, Japan. *J Vet Med Sci* (in press).
- Li Y-L, Sato H*, Kamata Y, Ohnishi T and Sugita-Konishi Y (2012): Three novel myxobolid species of genera *Henneguya* and *Myxobolus* (Myxosporidia: Bivalvulida) from marine fish in Japan. *Parasitol Res* (in press).
- Terada Y, Shiozaki Y, Shimoda H, Mahmoud HYA, Noguchi K, Nagao Y, Shimojima M, Iwata H, Mizuno T, Okuda M, Morimoto M, Hayashi T, Tanaka Y, Mochizuki M, Maeda K. Feline infectious peritonitis virus with a large deletion in the 5' terminal region of spike gene retains its virulence for cats. *Journal of General Virology* 2012, 93: 1930-1934.
- Sakai M, Ohno R, Higuchi C, Sudo M, Suzuki K, Sato H, Maeda K, Sasaki Y, Kakuda T, Takai S.

- Isolation of *Rhodococcus equi* from wild boars (*Sus scrofa*) in Japan. *Journal of Wildlife Diseases* 2012 48, 815-817.
- Bannai H, Tsujimura K, Kondo T, Nemoto M, Yamanaka T, Sugiura T, Kato T, **Maeda K**, Matsumura T. Mitigation of pyrexia by a Th-1-biased IgG subclass response after infection with equine herpesvirus type 1 in horses pre-immunized with inactivated vaccine. *Journal of Veterinary Medical Science* 2012 74(6): 791-795.
- Nagao Y, Nishio Y, Shimoda H, Tamaru S, **Shimojima M**, Goto M, Une Y, Sato A, Ikebe Y, **Maeda K**. An outbreak of canine distemper virus in tigers (*Panthera tigris*): Possible transmission from wild animals to zoo animals. *Journal of Veterinary Medical Science* 2012 74(6): 699-705.
- Kawano K, Ono H, Iwashita O, Kurogi M, Haga T, **Maeda K**, Goto Y. stx genotype and molecular epidemiological analyses of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7/H- in human and cattle isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Feb;31(2):119-127.
- Shirato K†, **Maeda K**†, Tsuda S†, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Satoshi Taniguchi S, Kyuwa S, Endoh D, Matsuyama S, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa Y, Akashi H, Mizutani T. Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. *Virus Genes.* 2012 Feb;44(1):40-44. (†Equally contributed)
- Kameo Y†, Nagao Y†, Nishio T, Shimoda H, Nakano H, Suzuki K, Une Y, **Sato H**, **Shimojima M**, **Maeda K**. Epizootic canine distemper virus infection among wild mammals. *Veterinary Microbiology* 2012, 154(3-4): 222-229. (†Equally contributed)
- Shimojima M**, Ströher U, Ebihara H, Feldmann H, Kawaoka Y*. Identification of cell surface molecules involved in dystroglycan-independent Lassa virus cell entry. *J Virol* 86(4):2067-2078, 2012
- Yamasaki, T., Suzuki, A., Shimizu, T., **Watarai, M.**, Hasebe, R., Horiuchi, M. Characterization of intracellular localization of PrP^{Sc} in prion-infected cells using monoclonal antibody that recognizes the region consisting of amino acids 119-127 of mouse PrP. *J. Gen. Virol.* 93(3): 668-680, (2012)
- Kim, D. H., Lim, J. J., Lee, J. J., Kim, D. G., Lee, H. J., Min, W., Kim, K. D., Chang, H., H., Endale, M., Rhee, M., H., **Watarai, M.**, Kim, S. RGS2-mediated intracellular Ca²⁺ level plays a key role in the intracellular replication of *Brucella abortus* within phagocytes. *J. Infect. Dis.* 205(3): 445-452, (2012)
- Kim, D. H., Lim, J. J., Lee, J. J., Kim, D. G., Lee, H. J., Min, W., Kim, K. D., Chang, H. H., Rhee, M. H., **Watarai, M.**, Kim, S. Identification of genes contributing to the intracellular replication of *Brucella abortus* within HeLa and Raw 264.7 cells. *Vet. Microbiol.* 158(3-4): 322-328, (2012)
- Tokuno, A. Ibaraki, Y., **Ito, S.**, Araki, H., Yoshimura, K., Osaki, K. Disease suppression in greenhouse tomato by supplementary lighting with 405 nm LED. *Environment Control in Biology* 50: 19-29 (2012)
- Umehara D, Kawamura M, Odahara Y, Watanabe S, Hanson C, Ruscetti S, **Nishigaki K**. Role of N-terminal sequences of the tyrosine kinase sf-Stk in transformation of rodent fibroblasts by variants of Friend spleen focus-forming virus. *Int J Cancer.* 2012 Sep 1;131(5):1083-94.
- Baba K*, Itamoto K, Amimoto A, Kitagawa K, Hiraoka H, Mizuno T, **Sato H** and Okuda M (2012): *Ehrlichia canis* infection in two dogs that emigrated from endemic areas. *J Vet Med Sci.* 74, 775-778.
- Yamane K, Suzuki Y, Tachi E, Li T, Chen X, Nakao M, Nkouawa A, Yanagida T, Sako Y, Ito A, **Sato H** and Okamoto M (2012): Recent hybridization between *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. *Parasitol Int* 61, 351-355.
- Harada* T, Kawai T, **Sato H**, Yokoyama H and Kumeda Y (2012): Development of a quantitative polymerase chain reaction assay for detection of *Kudoa septempunctata* in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Int J Food Microbiol.* 156, 161-167.
- Hasegawa H*, **Sato H** and Torii H (2012): Redescription of *Enterobius (Enterobius) macacaci* Yen, 1973 (Nematoda: Oxyuridae: Enterobiinae) based on material collected from wild Japanese macaque, *Macaca fuscata* (Primates: Cercopithecidae). *J Parasitol* 98, 152-159.
- Asahi Y, Noiri Y*, Igarashi J, Suga H, **Azakami H**, Ebisu S: Synergistic effects of antibiotics and an N-acyl homoserine lactone analog on *Porphyromonas gingivalis* biofilms. *J. Appl. Microbiol.* 112, 404-411(2012)

2011 年

- Ohno Y, Inoshima Y, **Maeda K**, Ishiguro N. Molecular analysis of parapoxvirus from a spotted seal

- (*Phoca largha*) in Japan. *Diseases of Aquatic Organisms* 2011. 97:11-16.
- Mahmoud HYA, Suzuki K, Tsuji T, Yokoyama M, **Shimojima M**, **Maeda K**. Pseudorabies virus infection in wild boars in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 2011. 73(11): 1535-1537.
- Shimoda H, Tamaru S, Morimoto M, Hayashi T, **Shimojima M**, **Maeda K**. Experimental infection of Japanese encephalitis virus in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 2011 Sep 30;73(9):1241-1242.
- Shimojima M**†, Nagao Y†, Shimoda H, Tamaru S, Yamanaka T, Matsumura T, Kondo T, **Maeda K**. Full genome sequence and virulence analyses of the recent equine isolate of Japanese encephalitis virus. *Journal of Veterinary Medical Science* 2011, Jun;73(6):813-816. (†Equally contributed)
- Horimoto T, Murakami S, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Ito T, Suzuki K, Yokoyama M, **Maeda K**, Kawaoka Y. Serological Highly pathogenic avian influenza virus infection in feral raccoons, Japan. *Emerging Infectious Diseases* 2011, Apr;17(4):714-717
- Bannai H, Tsujimura K, Kondo T, Nemoto M, Yamanaka T, Sugiura T, **Maeda K**, Matsumura T. Induction of a Th-1-biased IgG subclass response against equine herpesvirus type 1 in horses previously infected with type 4 virus. *Journal of Veterinary Medical Science* 2011. Apr;73(4):535-539.
- Tachibana, M., Hashino, M., Nishida, T., Shimizu, T., **Watarai, M**. Protective role of heme oxygenase-1 in *Listeria monocytogenes*-induced abortion. *PLoS one*. 6(9): e25046, (2011)
- Mochizuki H, Takahashi M, Nishigaki K, Ide T, Goto-Koshino Y, Watanabe S, **Sato H**, Sato M, Kotera Y, Fujino Y, Ohno K, Uchida K, Tsujimoto H. Establishment of a novel feline leukemia virus (FeLV)-negative B-cell cell line from a cat with B-cell lymphoma. *Vet Immunol Immunopathol*. 15;140(3-4):307-11 (2011)
- Matsukane Y, **Sato H***, Tanaka S, Kamata Y and Sugita-Konishi Y (2011): *Kudoa iwatai* and two novel *Kudoa* spp., *K. trachuri* n. sp. and *K. thunni* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida), from daily consumed marine fish in western Japan. *Parasitol Res* 108, 913-926.
- Maezono H, Noiri Y*, Asahi Y, Yamaguchi M, Yamamoto R, Izutani N, **Azakami H**, Ebisu S: Antibiofilm Effects of Azithromycin and Erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 55, 5887-5892 (2011)
- Matsunaga T, Nakayuki A, Saito Y, Kato A, Noiri Y, Ebisu S, **Azakami H***: Genomic Recombination through Plasmid-encoded Recombinase enhances Hemolytic Activity and Adherence to Epithelial Cells in the Periodontopathogenic Bacterium *Eikenella corrodens*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 75, 748-751 (2011)

2010 年

- Kawakami K, Ogawa H, **Maeda K**, Imai A, Ohashi E, Matsunaga S, Tohya Y, Ohshima T, Mochizuki M. A nosocomial outbreak of serious canine infectious tracheobronchitis (kennel cough) caused by canine herpesvirus infection. *Journal of Clinical Microbiology* 2010, 48:1176-1181
- Watanabe S†, **Maeda K**†, Suzuki K, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Shimoda H, Kato K, Yoshikawa Y, Morikawa S, Kurane I, Akashi H, and Mizutani T. Novel betaherpesvirus in bats. *Emerging Infectious Diseases*. 2010, 16(6): 986-988. (†Equally contributed)
- Shimoda H, Ohno Y, Mochizuki M, Okuda M, Iwata H, **Maeda K**. Dogs as sentinels for human infection with Japanese encephalitis virus. *Emerging Infectious Diseases*. 2010 Jul;16(7):1137-1139.
- Azab W, Tsujimura K, **Maeda K**, Kobayashi K, Mohamed YM, Kato K, Matsumura T, Akashi H. Glycoprotein C of equine herpesvirus 4 plays a role in viral binding to cell surface heparan sulfate. *Virus Research*. 2010. 151:1-9
- Sanekata T, Fukuda T, Miura T, Morino H, Lee C, **Maeda K**, Araki K, Otake T, Kawahata T, Shibata T. Evaluation of the antiviral activity of chlorine dioxide and sodium hypochlorite against feline calicivirus, human influenza virus, measles virus, canine distemper virus, human herpesvirus, human adenovirus, canine adenovirus and canine parvovirus. *Biocontrol Science* 2010 Jun;15(2):45-49.
- 和田優子、藤崎由香、**前田 健**、**佐藤 宏**、横山真弓、宇仁茂彦、水野拓也、奥田 優「大阪府および兵庫県の 2 地域における野生アライグマと犬のレプトスピラ抗体保有状況調査」日獣会誌 2010. 63 : 707-710.

- Watanabe, K., Shin E. K., Hashino, M., Tachibana, M., **Watarai, M.** Toll-like receptor 2 and class B scavenger receptor type I are required for bacterial uptake by trophoblast giant cells. *Mol. Immunol.* 47(11-12), 1989-1996, (2010)
- Abdel-Motaal, F. F., El-Sayed, M. A., El-Zayat, S. A., Nassar, M. S., **Ito, S.** Choanephora rot of floral tops of *Hyoscyamus muticus* caused by *Choanephora cucurbitarum*. *Journal of General Plant Pathology* 76: 358-361 (2010)
- Abdel-Motaal, F. F., Nassar, M. S. M., El-Zayat, S. A., El-Sayed, M. A., **Ito, S.** Antifungal activity of endophytic fungi isolated from Egyptian henbane (*Hyoscyamus muticus* L.). *Pakistan Journal of Botany* 42: 2883-2894 (2010)
- Abdel-Motaal, F. F., El-Zayat, S. A., Kosaka, Y., El-Sayed, M. A., Kashima, R., Maeda, Y., Nassar, M. S. M., **Ito, S.** Antifungal activities of hyoscyamine and scopolamine against the major rice pathogens: *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*. *Journal of General Plant Pathology* 76: 102-111 (2010)
- Nakamura Y, Nakamura Y, Ura A, Hirata M, Sakuma M, Sakata Y, **Nishigaki K.** Tsujimoto H, Setoguchi A, Endo Y. An Updated Nation-Wide Epidemiological Survey of Feline Immunodeficiency Virus (FIV) Infection in Japan. *J Vet Med Sci.* 2010 ;72(8):1051-1056.
- Umehara D, Watanabe S, Ochi H, Anai Y, Ahmed N, Kannagi M, Hanson C, Ruscetti S, **Nishigaki K.** Role of Phosphatidylinositol 3- Kinase In Friend Spleen Focus-Forming Virus-Induced Erythroid Disease. *J Virol.* 2010; 84(15):7675-682.
- Tanahara M, Miyamoto S, Nishio T, Yoshii Y, Sakuma M, Sakata Y, **Nishigaki K.** Tsujimoto H, Setoguchi A, Endo Y. An Epidemiological Survey of Feline Hemoplasma Infection in Japan. *J Vet Med Sci.* 2010;72(12):1575-81.
- Halajian A, Eslami A, Salehi N, Ashrafi-Helan, J and **Sato H*** (2010): Incidence and genetic characterization of *Gongylonema pulchrum* in cattle slaughtered in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iranian J Parasitol* 5, 10-18.
- Hasegawa H*, **Sato H.** Fujita S, Nguema P P M, Nobusue K, Miyagi K, Kooriyama T, Takenoshita Y, Noda S, Sato A, Morimoto A, Ikeda Y and Toshisada Nishida T (2010): Molecular identification of the causative agent of human strongyloidiasis acquired in Tanzania: dispersal and diversity of *Strongyloides* spp. and their hosts. *Parasitol Int* 59, 407-413.
- Matsukane Y, **Sato H***, Tanaka S, Kamata Y and Sugita-Konishi Y (2010): *Kudoa septempunctata* n. sp. (Myxosporaea: Multivalvulida) from an aquacultured olive flounder (*Paraalichthys olivaceus*) imported from Korea. *Parasitol Res* 107, 865-872.
- Sato H***, Ihara S, Inaba O and Une Y (2010): Identification of *Euryhalmis costaricensis* metacercariae in the skin of Tohoku hynobiid salamanders (*Hynobius lichenatus*) distributed in northeastern Honshu, Japan. *J Wildl Dis* 46, 832-842.
- Kato H*, Uezato H, **Sato H.** Bhutto A M, Soomro F R, Baloch J H, Iwata H and Hashiguchi Y (2010): Natural infection of the sand fly *Phlebotomus kazeruni* by Trypanosoma species in Pakistan. *Parasites & Vectors* 3: 10.
- Ito M*, Jiang W, Sato J J, Zhen Q, Jiao W, Goto K, **Sato H.** Ishiwata K, Oku Y, Chai J-J and Kamiya H (2010): Molecular phylogeny of the subfamily Gerbillinae (Muridae, Rodentia) with emphasis on species living in the Xinjiang-Uygur Autonomous Region of China and based on the mitochondrial cytochrome b and cytochrome c oxidase subunit II genes. *Zool Sci* 27, 269-278.
- Abdel-Motaal, F. F., El-Sayed, M. A., El-Zayat, S. A., Nassar, M. S., **Ito, S.** Leaf spot disease of *Hyoscyamus muticus* (Egyptian henbane) caused by *Cladosporium herbarum*. *Journal of General Plant Pathology* 75: 437-439 (2009)
- Matsunaga T, Nakahara A, Minnatul KM, Noiri Y, Ebisu S, Kato A, **Azakami H***: The Inhibitory Effects of Catechins on Biofilm Formation by the Periodontopathogenic Bacterium, *Eikenella corrodens*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 74:2445-2450, (2010)
- Aoki R, Saito A, **Azakami H.** Kato A*: Effects of various saccharides on the masking of epitope sites and uptake in the gut of cedar allergen Cry j 1-saccharide conjugates by a naturally occurring Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 7986-7990, (2010).

【総説・著書】(順不同)

佐藤 宏 (2012): 随伴侵入動物としての脊椎動物寄生蠕虫. 地球環境,(印刷中).

Shimoda H, Nagao Y, **Shimajima M.** **Maeda K:** Viral infectious diseases in wild animals in Japan. *Journal of Disaster Research* 2012. 7(3): 289-296.

- 佐藤 宏 (2012): 連載「動物病理学の今」第5回 最近話題の人獣共通寄生虫病. 病理と臨床 30(8),2-6.
- 前田 健: 「シカ肉処理の注意点1—ウイルス・細菌—」 *Journal of Veterinary Medicine* (獣医畜産新報)(文永堂)2012 65(6):469-473.
- 佐藤 宏 (2012): シカ肉処理の注意点2—寄生虫編—. *JVM* (獣医畜産新報) 65, 475-478.
- Hondo E, Terakawa J, Sugiyama M, Mizuno T, Maeda K. Behaviors of the flying fox in South-East Asia and Oceania. (東南アジア・オセアニアのオオコウモリの行動) *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine* (山口獣医学会誌) 2011. 38:31-44.
- 前田 健、水谷哲也、田口文広: コウモリ由来ウイルス感染症. 獣医疫学会誌. 2011. 15(2) 1-6.
- 前田 健、水谷哲也: ウイルス病原体の網羅的検出法 (RDV法) の確立と応用. 化学療法の領域 (医薬ジャーナル) 2011. 27(9):103-111.
- 佐藤 宏 (2011): 食中毒の新たな寄生虫性病原体として注目される粘液胞子虫の生物学. 山口獣医誌 38, 1-26.
- 前田 健: 動物のヘルペスウイルス感染症. 化学療法の領域 (医薬ジャーナル) 2010, 26(10): 87-94.
- 前田 健: 野生動物、伴侶動物、生産動物、昆虫、人が関与する日本脳炎ウイルス. *Journal of Veterinary Medicine* (獣医畜産新報)(文永堂) 2010. 63:893-898.
- 伊原禎雄, 宇根有美, 佐藤 宏, 稲葉 修 (2010): 阿武隈山地北部のトウホクサンショウウオにおける皮膚メタセルカリア結節の発生とその増加. 爬虫両棲会報 2010, 97-102.
- 佐藤 宏 (2010): 外来野生動物の寄生蠕虫 -アライグマ回虫ほか-. *JVM* (獣医畜産新報) 63, 915-919.
- 松金勇樹, 佐藤 宏, 田中秀平, 鎌田洋一, 小西良子 (2010): 市販魚の刺身・切り身に散見される *Kudoa* 属粘液胞子虫. *Recent Advances in Medical Sciences: Parasites and their human and animal hosts*; Shigehiko Uni & Isao Kimata (eds.), 41-46 頁, 第65回日本寄生虫学会西日本支部大会事務局.
- 佐藤 宏, 北川 梢, 説田 景, 横山真, 金城芳典, 谷地森秀二 (2010): 国内分布する美麗食道虫の遺伝子多型—国内移入経緯と伝播を考える—. *Recent Advances in Medical Sciences: Parasites and their human and animal hosts*; Shigehiko Uni & Isao Kimata (eds.), 143-147 頁, 第65回日本寄生虫学会西日本支部大会事務局.
- 佐藤 宏 (2009): 美麗食道虫(*Gongylonema pulchrum* Molin, 1857)とその伝播—宿主域は本当に広いのか?—. 山口獣医誌 36, 31-54.

【特許】

- 特願 2010-023093「ブルセラ属細菌感染の検出方法及び診断キット」発明者：度会雅久 出願人：山口大学、出願日：平成22年2月4日
- 特願 2012-114289「植物病害防除剤及びそれを用いた植物病害の防除方法」発明者：境昭二、伊藤真一 出願人：宇部マテリアルズ、出願日：平成24年5月18日
- 特願 2011-184317「植物病原菌に対する抗菌剤」発明者：伊藤真一、手島祥貴 出願人：ハイポネックスジャパン、出願日：平成23年8月26日
- 特願 2011-166103「病原抵抗性植物体およびその果実およびその茎葉およびその誘導方法および植物体栽培システム」発明者：伊藤真一、荊木康臣、吉村和正 出願人：山口大学、山口県産業技術センター。出願日：平成23年7月28日
- 特願 2010-195387「ネギ由来のサポニンを有効成分とする抗菌活性剤」発明者：伊藤真一、手島祥貴 出願人：ハイポネックスジャパン、出願日：平成23年8月26日
- 特願 2011-184317「植物病原菌に対する抗菌剤」発明者：伊藤真一、手島祥貴 出願人：山口大学、出願日：平成22年9月1日
- 特開 2010-172205「ヤマノイモモザイクウイルス弱毒株YMO6を接種したヤマノイモモザイクウイルス強毒株に対する抵抗性ヤマノイモ属植物、及び当該ヤマノイモ属植物におけるYMO6以外のヤマノイモモザイクウイルス感染の有無を判定する方法」発明者：伊藤真一、鍛冶原寛、村本和之 出願人：山口大学、山口県、公開日：平成22年8月12日
- 特開 2010-77100「シャロット由来抗糸状菌化合物」発明者：伊藤真一、マグディ エルサヤ

ト 出願人：山口大学、公開日：平成 22 年 4 月 8 日

【シンポジウム】(順不同)

前田 健「新興感染症の予測に向けた取り組み」山口大学農学部中高温微生物研究センター主催「山口大学農学部附属「中高温微生物研究センター」第3回シンポジウム「病原微生物研究の最前線」(山口県山口市)平成24年3月

Watarai, M., Interferon- γ promotes abortion due to *Brucella* infection in pregnant mice. 9th International Veterinary Immunology Symposium. 17 August, 2010, Tokyo
Teshima, Y., El-Sayed, M., Hangger, M., Shigyo, M., Tanaka, S., Akakabe, Y., Ito, S. Study on antimicrobial saponins from Allium plants. 6th International Symposium on Edible Alliaceae. 21 May, 2012, Fukuoka, Japan.

【国際学会】(順不同)

Yumiko Nagao, Yohei Nishio, Hiroshi Shimoda, Yutaka Terada, Keita Noguchi, Hiroshi Sato, Tomomi Nakajima, Masahito Kubo, Masahiro Morimoto, Toshiharu Hayashi, Masayuki Shimojima, Ken Maeda. Emergence of a new genotype of canine distemper virus in Japan. American Society for Virology 31st Annual Meeting (Madison, USA) 2011. July 21-25.

Hiroshi Shimoda, Natnaree Inthong, Masayuki Shimojima, Tomohiko Takasaki, Worawut Rerkamnuaychoke, Ken Maeda. Establishment of an enzyme-linked immunosorbent assay for sero-survey of Japanese encephalitis virus among dogs and its application. American Society for Virology 31st Annual Meeting (Madison, USA) 2011. July 21-25.

Shiozaki Y, Shimojima M, Shimoda H, Mizuno T, Maeda K. Rapid infection of feline infectious peritonitis virus to Fc receptor-expressing cells by addition of antibody. IUMS 2011 Sep 15 (Sapporo, Japan) 2011.

Matsui N, Shiozaki Y, Mochizuki M, Shimojima M, Maeda K. Genetic evidence of type II feline coronavirus emerged by recombination between type I feline coronavirus and canine coronavirus in individual cats. IUMS 2011 Sep 15 (Sapporo, Japan) 2011.

Shimoda H, Tamaru S, Shimojima M, Maeda K. Dogs are good sentinels for Japanese encephalitis virus infection in rural/residential areas. IUMS 2011 Sep 15 (Sapporo, Japan) 2011.

Azakami H, Matsunaga T, Saito Y, Yamada K, Kato A, Ebisu S: Genomic Recombination through Plasmid-Encoded Recombinase Enhances Hemolytic Activity and Adherence to Epithelial Cells in the Periodontopathogenic Bacterium *Eikenella corrodens*. IUMS2011 Sep 10 (Sapporo, Japan) 2011.

Matsunaga T, Saito Y, Nakahara A, Kato A, Ebisu S, Azakami H: Effect of genomic recombination in periodontopathogenic bacterium on its lectin-dependent adhesion to epithelial cells, Pachichem 2010 Conference Dec 16 (Honolulu, USA) 2010

Kato A, Aoki R, Saito A, Azakami H: Cedar pollen Cry j 1-galactomannan conjugate can be used as immunotherapy for pollinosis patients. 101st AOCS annual meeting May 18 (Phoenix, USA)

【招待講演】(順不同)

前田 健、本道栄一、水谷哲也「コウモリを自然宿主とするウイルスを知るために」第 149 回日本獣医学会学術集会、平成 22 年 3 月 (東京)

前田 健「獣医領域のウイルス感染症から学ぶ」第 25 回中国四国ウイルス研究会(特別講演)平成 22 年 6 月 26 日(岡山)

伊藤真一「ネギ類由来の抗菌物質とその利用」平成 22 年度園芸学会ネギ類研究小集会、大分大学 (大分市) , 2010 年 9 月 18 日

阿座上弘行、山田和範、松永哲郎、野杻由一郎、恵比須繁之、加藤昭夫: 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* はゲノム再編により高病原化する、日本農芸化学会中四国支部例会、愛媛大学(松山市) , 2012 年 6 月 2 日 (2011 年度 B.B.B.論文賞受賞講演)