

アメリカ合衆国の微生物遺伝資源保存機関の視察

農業生物資源研究所 ジーンバンク
微生物資源研究チーム・遺伝資源資源管理課
竹内香純・飯田元子

Inspection of Management Facilities of Microorganism Genetic Resources in the USA

Kasumi TAKEUCHI and Motoko IIDA

Microorganism Genetic Resources Laboratory and Genetic Resources Management Section,
Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences
Kannonndai 2-1-2, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan

1. 目的

アメリカ合衆国の微生物遺伝資源保存機関を訪問し、保存方法、情報管理等に関する現状調査および情報収集を実施する。特に、当ジーンバンクにおける凍結保存で生残率の低い卵菌類の長期保存方法についての情報収集を行う。

2. 用務先および視察日程

- ・ 米国バージニア州マナッサス (図 1) 2003 年 10 月 7 日 (火) ~8 日 (水)
American Type Culture Collection (ATCC) (図 2)
- ・ 米国メリーランド州ベルツビル (図 1) 2003 年 10 月 9 日 (木)
USDA Beltsville Agriculture Research Center (BARC; 米国農務省ベルツビル農業研究センター) (図 4)

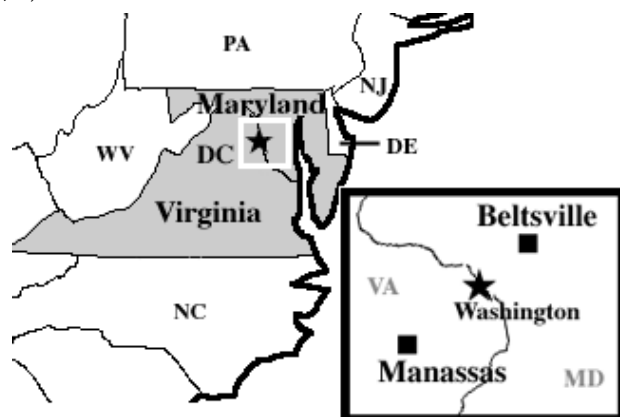


図 1. 米国内における用務先の略図

3. 訪問相手

- ・ ATCC

Dr. Shung-Chang Jong

Director, Yeast Genetic Research Resource Center

Director, Mycology & Botany

- ・ BARC

Dr. Allan K. Stoner

Research Leader, National Germplasm Resources Laboratory

Dr. Peter K. Bretting

National Program Leader, Plant Germplasm and Genomes

Dr. Amy Y. Rossman

Research Leader, Systematic Botany and Mycology Laboratory

Dr. Dave Farr

Systematic Botany and Mycology Laboratory

Dr. Erin Beatty McCray

Systematic Botany and Mycology Laboratory

4. 調査概要

< ATCC >

(1) 沿革・任務

ATCC は世界最大の生物資源の保存機関であり、細菌、糸状菌、酵母、ウイルス、動植物培養細胞および DNA クローンなど、あらゆる生物資源の保存管理および供給を行っている。保存菌株数は現在 9 万 2 千系統以上、標本数は 200 万に上るといふ。ATCC は民間組織であるが、政府からの補助も数パーセントの割合で受けている。

ATCC の設立は 1925 年であり、当時、科学者の中で微生物の寄託および配布を行うことのできる中枢機関の必要性が認識されはじめた時代背景がある。1937 年にワシントン DC のジョージタウン大学へ移るまでは、シカゴのマコーミック(McCormick)協会に組織をおいていた。1958 年にウイルスとリケッチアの登録機関の一つとなり、また、品質保証された無菌細胞株の需要が急速に高まったことから 1962 年に培養細胞事業が始まった。その後、微生物保存技術の進歩とともに原生生物の収集が拡充され、1980 年には DNA クローンの保存も始められた。事業が拡大し、保存数が増加するにつれ施設のスペースが不足するようになったため 1998 年に現在地であるバージニア州 マナッサスの施設へ移動した。なお、隣接する George Mason 大学では ATCC と提携してバイオサイエンスおよび情報分野のカリキュラムが組まれており、Shung-Chang Jong 氏もこの大学で教授を兼任しているとのことであった。

ATCC の任務の最大の特徴として、特許株の保管が挙げられる。1949 年から始められ、1981 年に世界で初めて国際寄託当局(IDA)となった。現在ではブダペスト条約に基づく世界的な特許株保存機関となっている。ATCC は研究の再現性ならびに比較実験の精度を高めるため高度に特性評価がなされた培養株を保存、配布することが求められている。また、診断薬、治療薬などに利用する培養株は厳格な基準を満たし、純品であること、特性を保持していることが必要条件となる。ここ 20 年はライフサイエンスの劇的な進展があったが、幅広い種の微生物の保管と配布をしている ATCC は、それらの業績に貢献してきた。今後も蓄積された微生物資源、情報、専門知識が研究、産業の新たな進展へ結びつくようにすることが任務である。



図 2. ATCC

(2) 微生物ジーンバンク事業業務の内容

ATCC に微生物が寄託されてから登録、増殖、保存、配布されるまでの過程について Shung-Chang Jong 氏より説明を受けた。

大まかな流れは当ジーンバンクと同じであったが、菌株の検査体系に違いがみられた。ATCC では、徹底した品質管理 (Quality Control) のもと、寄託された菌株を各種微生物を専門とする担当者がチェックし、それぞれの特性を有する株であるか、生育はよいか、純正なものであるか等の検査に通した上で登録を行っている。また検査は一人で行うのではなく、何人かのチェックを経て登録されるとのことであった。そのため、登録、保存されたものには間違いがないという前提で、配布時には検査を行わないとのことである。それに対し、当ジーンバンクでは寄託、登録時には検査は行わないが、長期保存初期 (保存後 1 ヶ月および 1 年後) の定期検査を行い、また、糸状菌についてはさらに配布前に品質チェックをしてから送付している。ATCC では 1999 年から菌株のオンライン注文を開始し、申請を受けてから配布するまでの業務の効率化に成功し、より迅速に配布が行えるようになったとのことである。なお、Jong 氏より、以下の資料の譲渡を受けた (図 3)。

ATCC QC AND REFERENCE STRAINS, M.J. Edwards, 1997.

ATCC NAMES OF INDUSTRIAL FUNGI, S. C. Jong *et al.*, 1994.

ATCC Quality Control Methods for Cell Lines, R.J. Hay *et al.*, 1992.



図3. ATCC 発行の資料

(3) 微生物の保存及び復元方法

微生物、特に糸状菌の保存方法について情報収集及び話し合いを行った。保存形態については、孢子形成が多いものは凍結乾燥法、その他は液体窒素気相による凍結保存で行っており、当ジーンバンクと同様であった。凍結時の保護剤は凍結乾燥法では、当ジーンバンクが10%スキムミルクであるのに対し、20%スキムミルクで行っていた。液体窒素保存においては10%グリセリンを使用しており、当ジーンバンクと同じであった。また復元時の解凍温度は、当ジーンバンクでは30°Cで解凍しているのに対し、ATCCでは37°Cもしくはそれ以上で急速解凍を行っているとのことであった。また、当ジーンバンクで生残率の低い卵菌類の保存、復元方法について話し合いを行った。ATCCでは、他の糸状菌と同じ様にグリセリンやDMSOを保護剤として用い、解凍は他の糸状菌よりもさらに高温で急速解凍することにより80%ほどの生残率を保っているとのことであった。当ジーンバンクでは卵菌の場合は保護剤にスキムミルクを加えて、解凍は他の糸状菌と同じ温度で行っているが、生残率は低いのが現状である。

(4) 施設見学

微生物保存施設、培養準備室、実験室などを見学した。セキュリティーシステムが非常に厳しく、まず正面玄関には警備員が常駐しており、部外者の入所は簡単にはできないようになっていた。また入口でセキュリティーチェックを受け、残念ながら写真撮影は禁じられた。各部屋ごとでもカード認識により入室が許可される仕組みになっていた。それぞれの作業に専用の部屋があり、業務ごとの担当者が明確になっているので、所内の職員であっても担当者以外が入室することはできないようになっていた。微生物の保存は760平方メートルもの広大な低温室に設置された55台の超低温フリーザー、65台の液体窒素槽により行っていた。中核制御室を備え、特別な空調制御システムを整えていた。バイオセーフティレベルが2と3の微生物については封鎖室で保管をしていた。また、万一の大災害に備えて、マナッサス外部にバックアップ用の保存施設を有しているとのことであった。

(5) ATCC における研究体制

ATCC の組織は現在大きく分けて管理、研究、事業の 3 部門に分かれている。研究部には 24 の研究室が存在するが、その膨大な生物資源を生かして他機関との共同研究を行うことが基本的な研究姿勢のようであった。特に、医療分野への功績が認められ、近年、NIH や FDA が ATCC を拠点としてプロジェクトを遂行するよう、1 億 3 千万ドルもの予算が与えられている。これは、マラリア、SARS およびウエストナイルウイルス等の感染症、また、バイオテロへの対策を考慮したものである。

ATCC では組織上、President 兼最高経営責任者 (CEO) を置いているが、CSO (Chief Scientific Officer) のポストも設置されている点が特徴的であった。事業との関連では、糸状菌、細菌、ウイルス、培養細胞など各生物ごとにキュレーターとなる専門の研究者が置かれており、品質管理に携わっていた。

< BARC >

(1) USDA における遺伝資源組織

BARC では、Allan K. Stoner 氏および Peter K. Bretting 氏より、USDA における ARS (Agricultural Research Service) 全体の遺伝資源組織の概要について説明を受けた。農業生産に重要な遺伝資源の受託、同定、保存、データ化および配布を円滑に行うことを使命とし、1990 年より National Genetic Resources Program (NGRP) が進行中とのことであった。これは植物、動物、微生物、無脊椎動物の 4 つのプログラムからなっており、それらの遺伝資源情報は Germplasm Resources Information Network (GRIN) 上で公開されている。

微生物部門は、USDA ARS Culture Collection、USDA ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures (ARSEF)、USDA ARS National Rhizobium Genetic Resource Center、US National Fungus Collections の 4 組織からなっており、全体で 10 万系統以上の細菌、糸状菌等の微生物を保有しているとのことであった。イリノイ州ピオリアにある USDA ARS Culture Collection では 8 万 5 千以上の菌株を保有しており、特許株もブダペスト条約に基づいて保有、維持されている。

(2) 微生物遺伝資源データベースについて

ARS Culture Collection では分子遺伝学的解析と形態学的解析により得た酵母、細菌、糸状菌の情報をデータベースで公開している。分子遺伝学的解析法の導入により、これまで形態学的解析法のみでは特定できなかったコレクションの同定が可能となり、それらの結果を合わせて、農業、産業に重要な新たな素材を発見することもできるとのことであった。研究者は、こうしたデータベースを利用することにより、研究者同士で情報を共有して研究の発展を目指している。このように蓄積されたデータベースは、上記 GRIN と同様専門のコンピューター上に置くことにより情報の利用を迅速にできるようになっている。

(3) 微生物標本について

US National Fungus Collections では百万点以上の糸状菌標本を所蔵している。これらの多くは、宿主、採集地等がデータベースに登録されており、非常に大量のデータとなっている。標本のうち60%は米国内で採集されたものである。これらの標本は予想される病原菌と比較するために使われている。年間、約100件の貸し出しを世界中に行っている。

(4) BARC における研究体制について

USDA/ARS 全体では、22の National Program からなっており、さらにそれらは1200もの Research Project に分かれている。微生物遺伝資源関連では、例えば以下のプログラムが設定されており、各々300のプロジェクトを擁している。

- Plant, Microbial & Insect Genetic Resources, Genomics, & Genetic Improvement
- Plant Disease

今回訪問した Systematic Botany and Mycology Laboratory (SBML) では、糸状菌コレクションのオンライン情報の高度化、植物病原糸状菌の分子同定・形態学的同定法の確立、植物検疫上重要な糸状菌の同定法に関するテクニカルサポートなどがプロジェクトとして位置付けられていた。なお、SBMLの Amy Y. Rossman 氏、Dave Farr 氏は US National Fungus Collection のキュレーターでもある。



図4. 米国農務省ベルツビル農業研究センター

5. 所感

ATCC は保存菌株数が9万2千以上と非常に多いため、保存施設の規模が大きくセキュリティーも整えられていた。そして作業は完全な分担体制をとることにより円滑に業務遂行されていた。これらのことは、今後、当ジーンバンクの規模拡大時の施設利用、人員配置において参考となるものであった。また、菌株注文のオンラインによる受付などは、普及まで労力を要すると思われるが、当ジーンバンクでの業務の効率化につながるシステムであると感じた。さらに、ATCC における微

生物保存方法及び復元方法を試み、よりよい技術を取り入れていく必要があるだろう。一方 ATCC は民間組織であるので当然のことだが、マーケティング部門がある程度の割合を占めており、対外的なセールス活動も盛んに行われている印象を受けた。

BARC では保存微生物についての情報を公開するデータベースが充実しているようであった。各コレクションの塩基配列等、分子遺伝学的解析や形態学的解析に基づく様々な情報をデータベースに蓄積し、研究者が利用できるようにしている点から微生物資源の利用を積極的にバックアップしていることがわかった。また、微生物の専門知識を持つデータベース担当者がいることからデータベースに力を入れていることが感じられた。当ジーンバンクでは現在、塩基配列等の情報は載せていないが、今後そのようなデータも付加し利用価値の高い情報提供をしていくことが求められると感じた。

両機関を通じていえることは、キュレーター体制のもと品質管理が行われていた点であり、これは当微生物ジーンバンクの信用を向上していく上でも重要であろう。

Summary

In order to obtain information about management systems of microorganism genetic resources in the USA, we inspected ATCC and BARC. In ATCC, staff scientists contribute as curators to maintain biological materials and principle for the quality control is thorough. The building is controlled under high security level. Furthermore, on the assumption that catastrophic event might occur, a back-up safe storage facility is maintained. Such policy should be applied to our genebank. We also learned method for the preservation of Oomycetes which is difficult to be preserved successfully in our genebank. In BARC, a system for ARS Culture Collection was introduced. It provides substantial information of strains characterized by molecular genetic methods and physiological tests. The U.S. National Fungus Collections were also introduced. These collections are the repository for over one million fungal specimens. These information provide us the idea that will be useful for the improvement our genebank system.

微生物の探索収集プロフィール



北海道で見られたスムーズブロムグラス上の *Drechslera bromi* (Died.) Shoem.による病斑(月星)



香川県で見られたキュウ立枯れ症状
(伊藤・築尾)



新潟県で見られたダイズシストセンチュウ
によるダイズ被害根 (相場)



American Type Culture Collection (ATCC)
(竹内・飯田)