

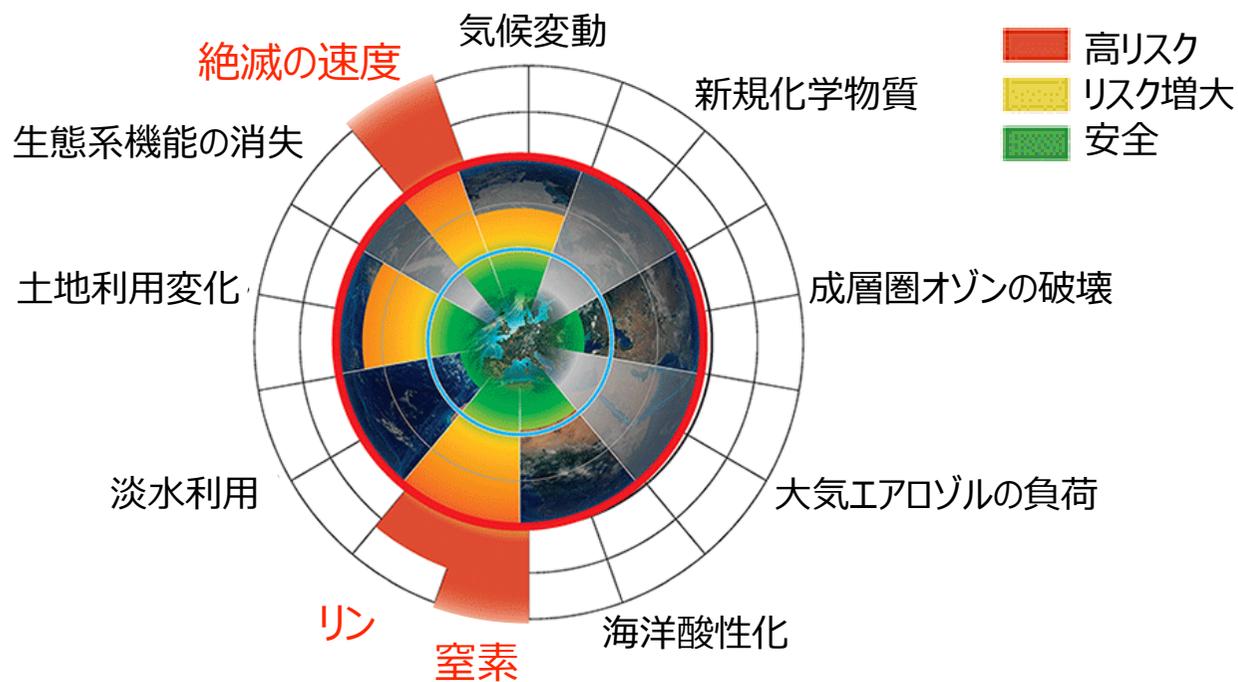
有用微生物の 大規模スクリーニング技術

所属 理化学研究所
バイオリソース研究センター
植物-微生物共生研究開発チーム
氏名 成川 恵

農業におけるSDGsに基づいたバイオものづくり

環境省「平成30年版 環境・循環型社会・生物多様性白書」

Will Steffen et al.「Planetary boundaries : Guiding human development on a changing planet」より



持続可能な社会へ向けた パラダイムシフト

人間活動による限界を
超えた地球環境の悪化

特に農業にも関わる窒素や
リン、絶滅の速度が高リスク

地球環境に負荷を与える
化学肥料や化学農薬の使用
を制限した農業革新



地球環境にやさしい農業への転換

化学農薬・化学肥料から生物農薬・有機肥料へ

農業におけるSDGsに基づいたバイオものづくり

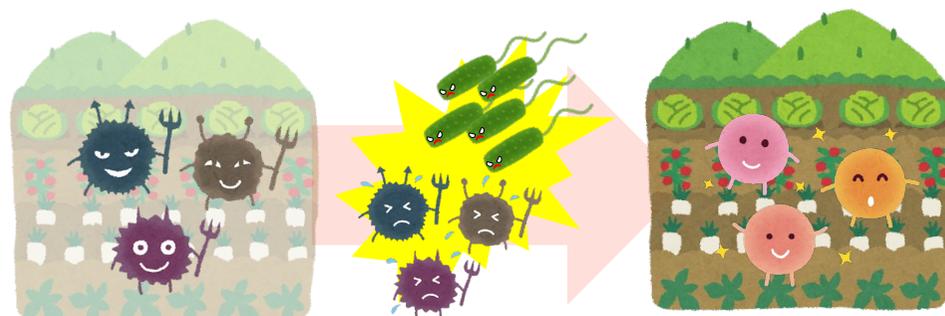
減農薬に向けた微生物の活用

2025年までに世界の農業微生物市場は
121億米ドル規模に



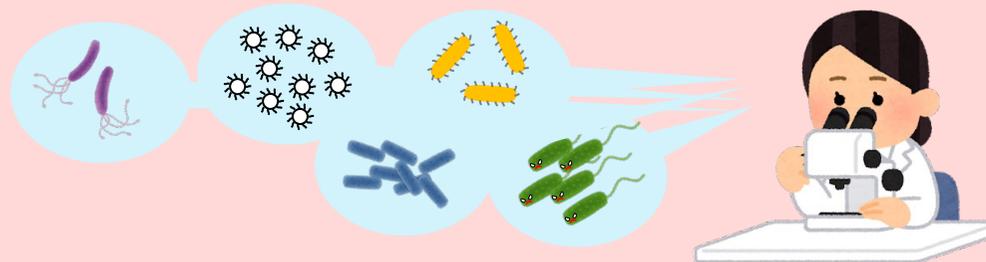
- 窒素供給 (共生根粒菌やAzotobacterなど)
- リンの動員 (Penicilliumなど)
- 害虫防除 (Bacillus thuringiensisなど)
- カビ防除 (Trichoderma virideなど)

植物病原菌を拮抗微生物で制す！



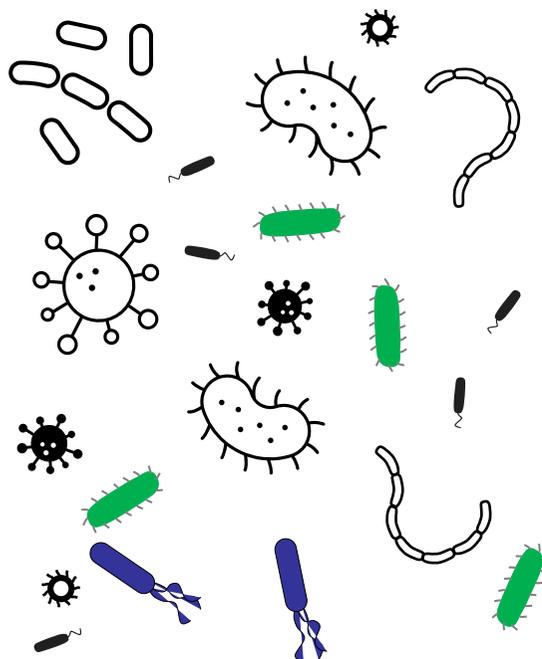
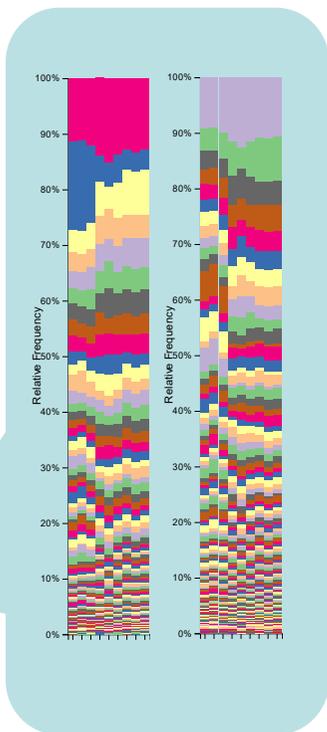
作物の病原菌の天敵である拮抗微生物
を用いた防除で、環境にやさしい農業を目指す

拮抗微生物の大規模開発基盤構築



あらゆる環境条件、あらゆる作物の生育ステージで機能する、
ゴールドスタンダードとなる微生物資材の開発基盤を構築

微生物培養技術の重要性



近年、次世代シーケンサーを用いた網羅的な細菌叢解析が精力的に行われ、微生物の世界の概要は明らかになりつつあるが、環境微生物の中で実際に培養できる微生物は1割にも満たない

微生物培養はとても重要

- ・ 対象微生物の代謝・生理機能・生態における役割の理解
- ・ 微生物を応用した技術開発

従来技術とその問題点

Created with BioRender.com



手作業で行う



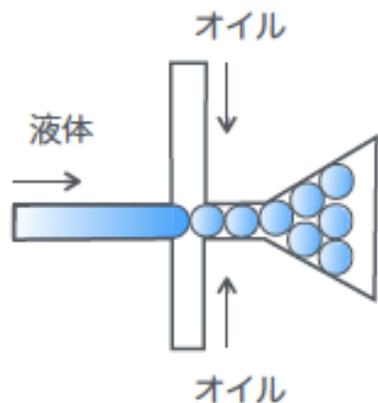
大量の資材とスペースが必要



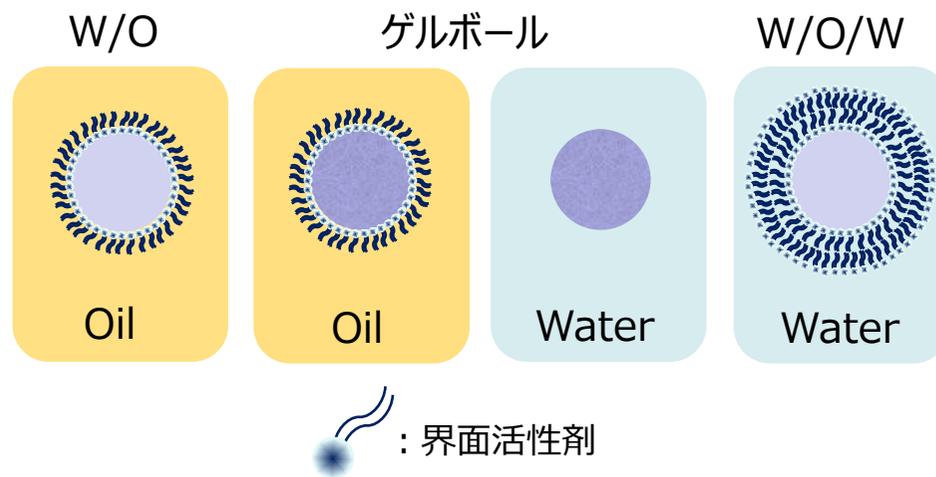
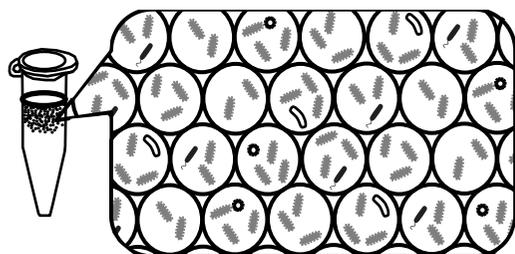
肉眼で選別して
手作業でピックアップ

従来法は煩雑で重労働

微小液滴技術はスループット性が高い



マイクロ流体装置



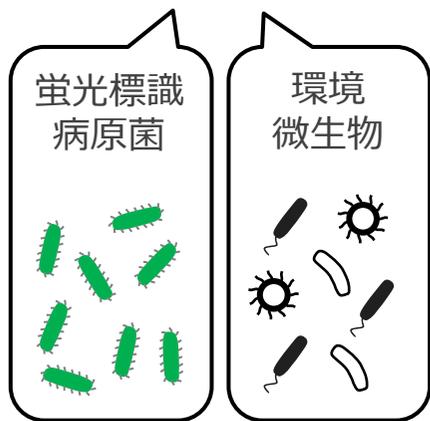
- 液滴の大きさは数十～数百 μm ほどで、1液滴あたりfL～nL単位の液量
- 大量に区画化された培養が、省試薬 & 省スペースで可能
(1.5 mLチューブに、300万の液滴が収納可)
- 全自動作成装置により、実験時間短縮
(30分間で400万の液滴作成が可能)
- 液滴サイズが均一なので、定量的な評価に最適

拮抗微生物スクリーニングへの応用

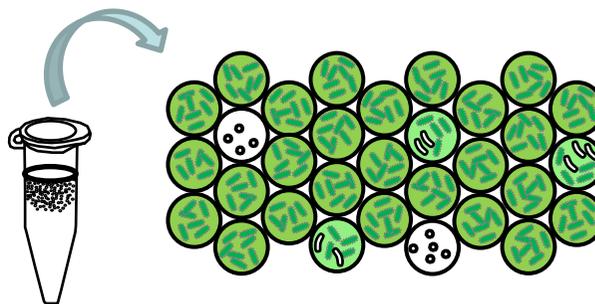
Droplet Generator



蛍光標識病原菌
と環境微生物を
同一液滴に封入



培養



蛍光量

高

低

- 蛍光標識病原菌のみ
- 間接的な作用を持つ拮抗微生物が共存
- 強い作用を持つ拮抗微生物のみ

Droplet Selector



蛍光の減衰した
液滴を選抜、分注

→ 廃棄

→ 回収



大量リソース化

トマト青枯病菌を用いた実施例

供試土壌病害菌：青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*)

- ・トマトやジャガイモなど200余種もの植物に感染し、被害が発生
- ・防除の必要性は非常に高いが、その発生を安定的に抑えることは現在困難
- ・拮抗微生物も単離されているが、その用途は限定的
- ・青枯病菌の形質転換法が確立しており、実験室での取り扱いが容易

モデル拮抗微生物

*Pseudomonas*属 #3-8A株

限界希釈法で得られたBRC土壌微生物から選抜、ハロー形成あり

Mitsuaria sp. TWR114株

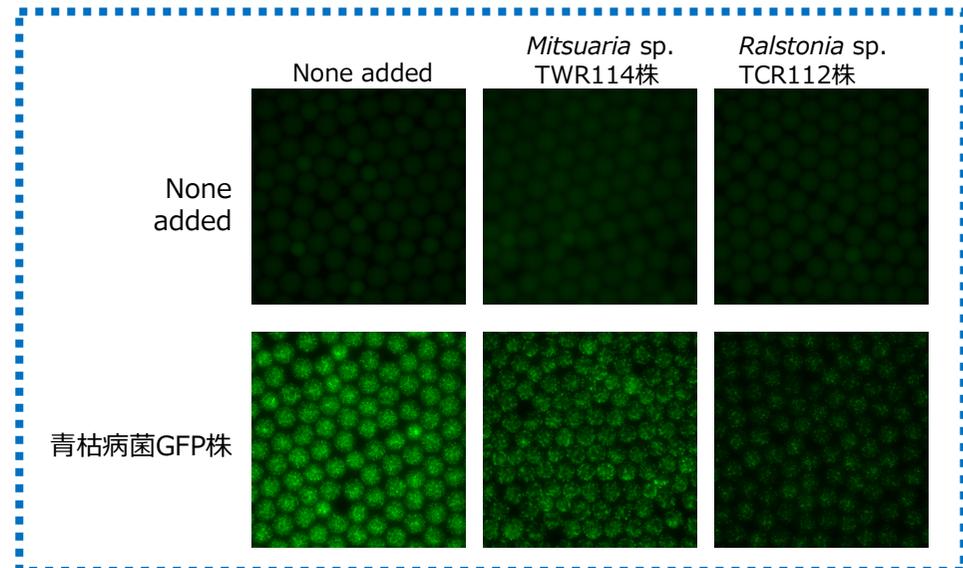
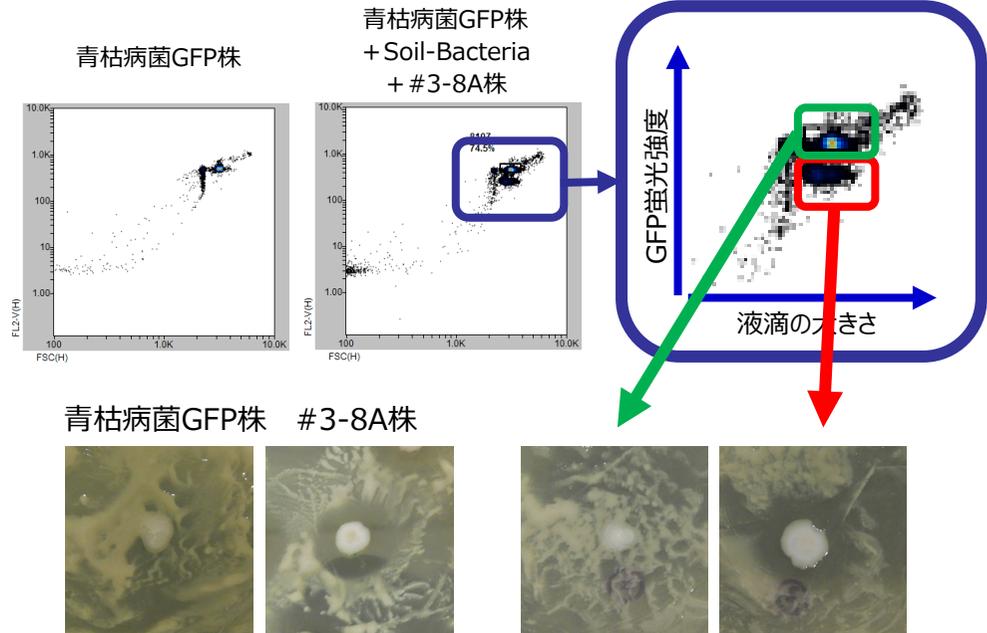
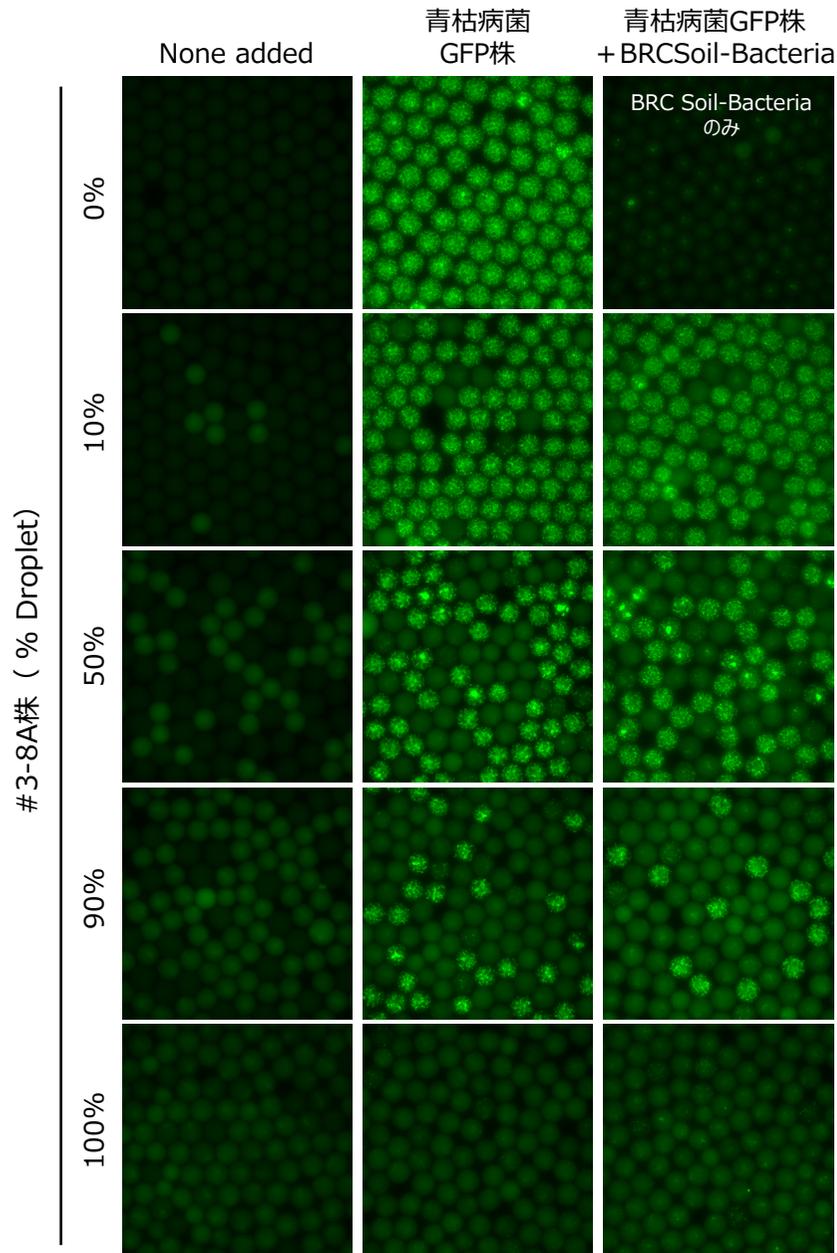
すでに報告された拮抗微生物、栄養競合作用、ハロー形成なし

Ralstonia sp. TCR112株

すでに報告された拮抗微生物、栄養競合作用、ハロー形成なし



モデル実験系の構築

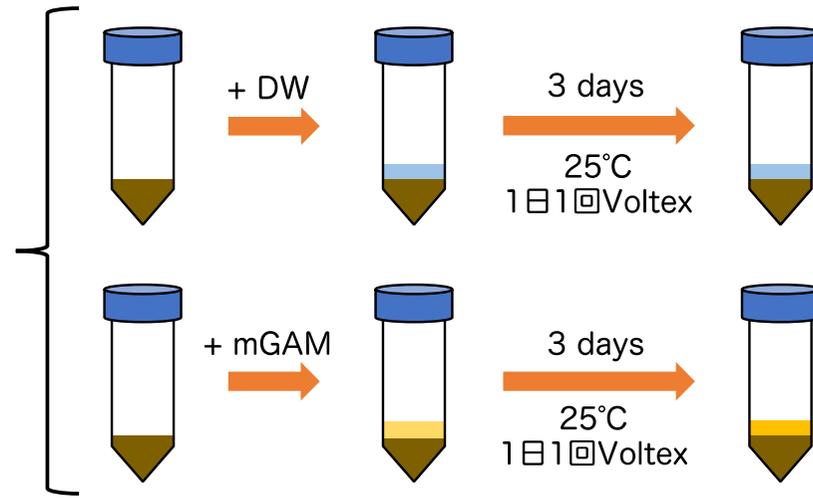


土壌からの拮抗微生物スクリーニング

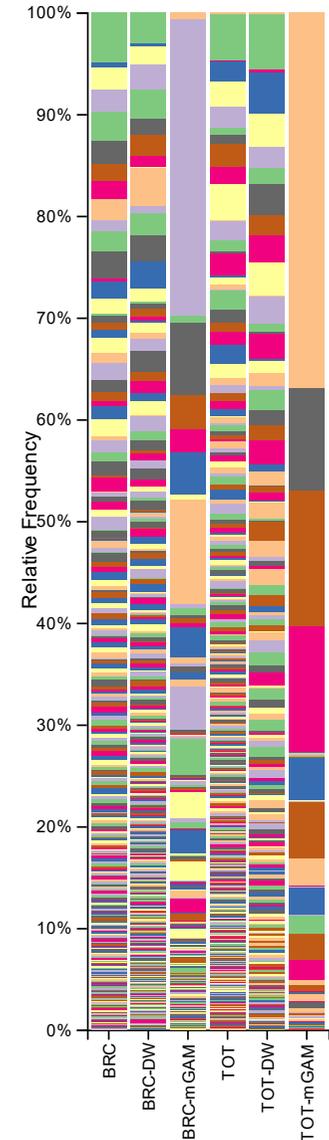
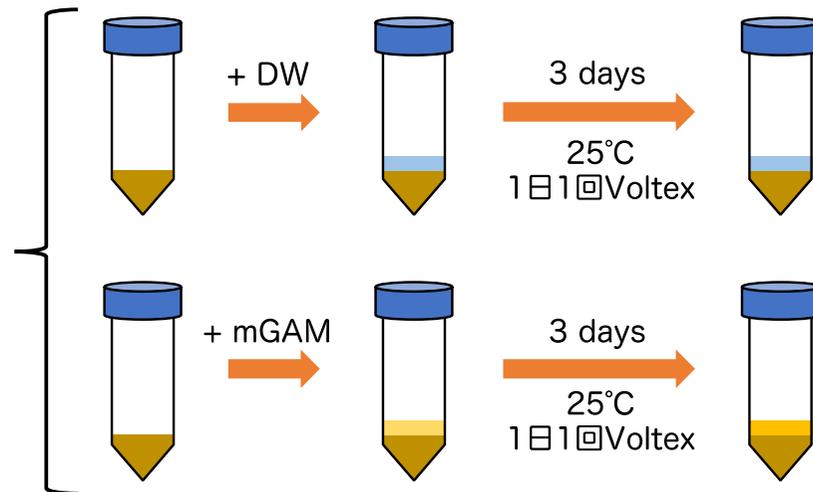
～ 集積培養を用いた土壌微生物活性化 ～



理研BRC内土壌 (BRC)

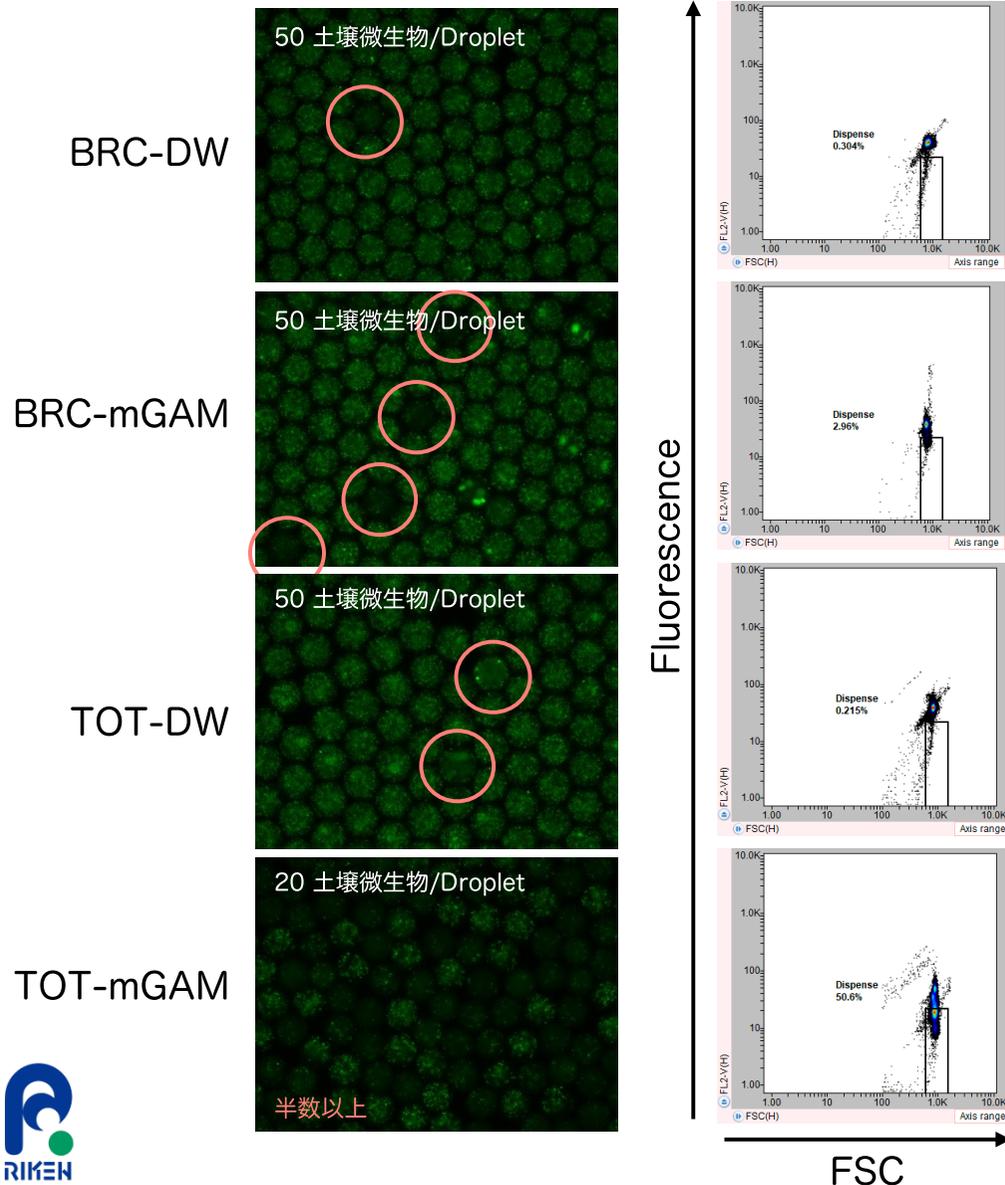


鳥取大土壌 (TOT)



土壌からの拮抗微生物スクリーニング

～ 実際のスクリーニング例 ～



供試土壌	土培養	Plate No.	総液滴数	選液滴数	増殖well数
BRC	DW	1	114,914	96	60
		2	108,333	96	4
		3	106,379	96	5
		4	112,009	96	66
		5	109,361	96	34
	mGAM	1	81,985	96	76
		2	72,327	96	83
		3	67,848	96	74
		4	69,023	96	76
		5	77,591	96	79
TOT	DW	1	128,556	96	62
		2	122,192	96	59
		3	119,898	96	77
		4	156,847	96	70
		5	123,419	96	74
	mGAM	1	72,945	96	70
		2	71,028	96	6
		3	126,472	96	85
		4	78,366	96	80
		5	75,079	96	76

総液滴数 : 1,194,572
選液滴数 : 1,920
増殖well数 : 1,216

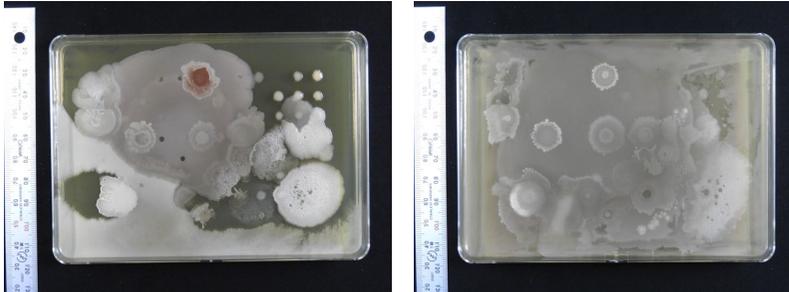
拮抗微生物候補株のストック化

青枯病菌塗布

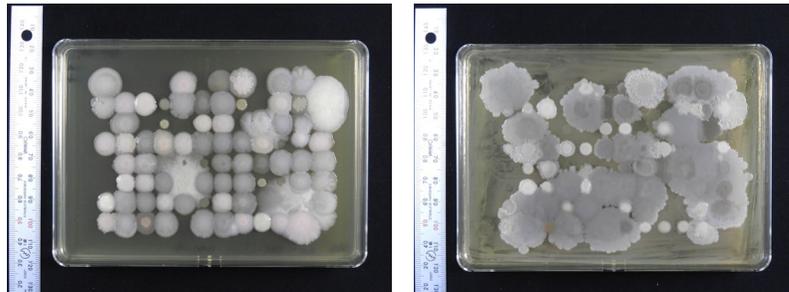
なし

あり

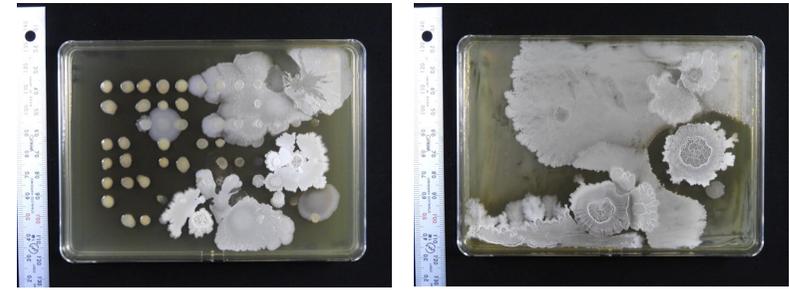
BRC-DW



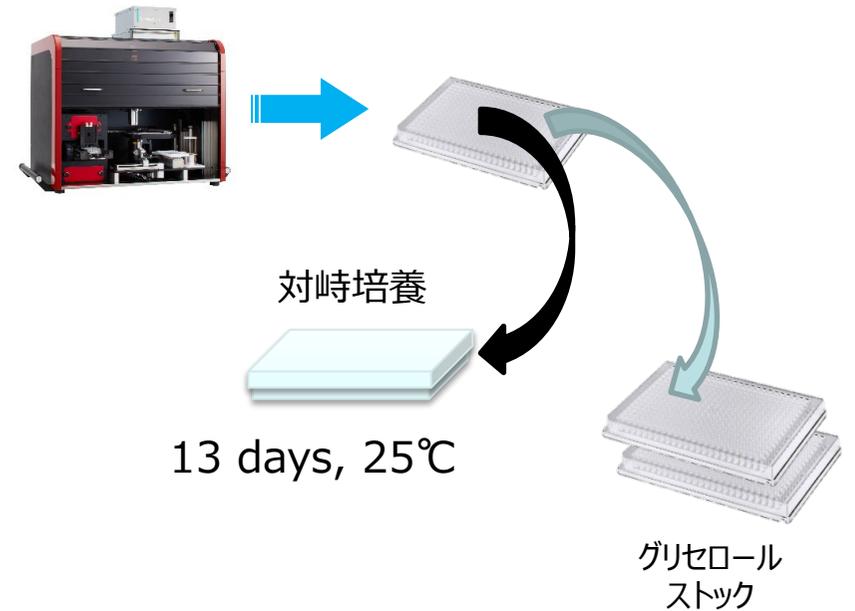
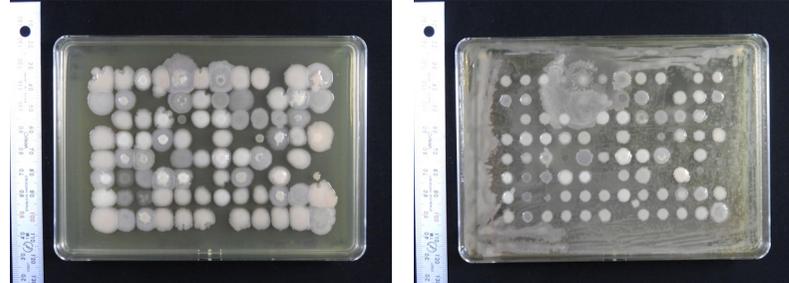
BRC-mGAM



TOT-DW



TOT-mGAM



青枯病菌との共培養下で増殖の著しい株や、ハロー形成株が得られた

NGSでの多サンプル同時アンプリコン解析を行い、15属1211株を取得した

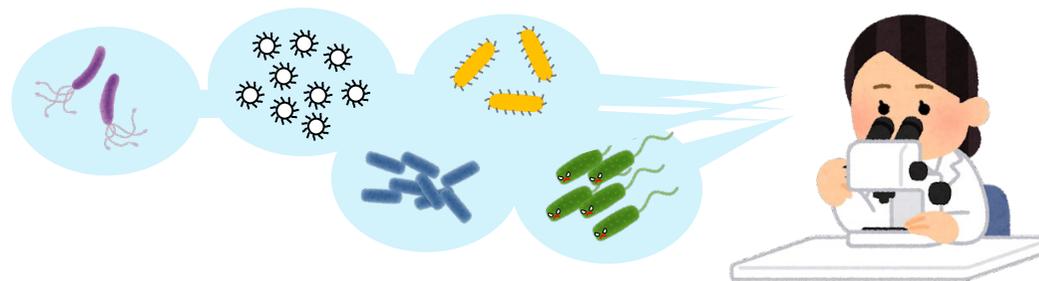
想定される用途

本技術の特徴

- ・有用微生物のミリオンスクリーニングを実現
- ・任意の微生物単離源からのスクリーニングが可能
- ・省スペースかつ簡単な操作でスクリーニングが可能

想定される用途

- ・農業上有用な拮抗微生物の探索
- ・抗生物質や有用化合物合成菌の探索
- ・有毒物質分解菌の探索



実用化に向けた課題

- 得られた拮抗微生物候補株の、実際の圃場での効果確認
- 様々な病原菌の拮抗微生物スクリーニング系を開発予定
 - …ヒト日和見病原菌についても、拮抗微生物大規模スクリーニング系を開発中
- 拮抗微生物以外の有用微生物スクリーニングについても開発予定

企業への期待

- 拮抗微生物を開発中の企業様、これからの開発をお考えの企業様は、共同研究やスクリーニングの受託試験についてご相談ください
- 新しい微生物スクリーニング系を立ち上げたい企業様には、本技術の技術指導をご提供できます

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：有用微生物のスクリーニング方法
- 出願番号：特願2022-074332、PCT/JP2023/16681
- 出願人：理化学研究所
- 発明者：市橋泰範、成川恵

お問い合わせ先



株式会社理研鼎業 (りけんていぎょう)

新技術説明会事務局

E-mail: senryaku@innovation-riken.jp