The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

プロジェクト・バイオ

「渾沌（カオス）」の制御法…複合培養系を制御するコツ

（独立行政法人　農業・食品産業技術総合研究機構）篠原　信

筆者の研究フィールドである農業の現場は，多種多様な微生物があふれかえる世界である．単離培養した微生物が（試験管の中で）どれだけ優れていても，現場で機能を発揮することは期待できない．さりとて，雑多で複雑系の微生物群集を制御することは不可能．そんな感想をお持ちの方は多いのではないだろうか．

だが，果たしてそうだろうか？複雑系の一つである腸内細菌は大量の微生物を食べ物と一緒に引き受けながら，恒常性を保つことができる．腸は複雑系制御の一例だ[1]．

人為的な制御にも成功例がある．伝統的発酵である．酒造タンクはコンタミも起こりうる開放系の培養環境だが，糖化やエタノール発酵が問題なく進行する．麹や酵母などの主役以外にもさまざまな微生物が働き，酒蔵独自の風味を添える．複雑系でも人為的な制御が可能であることを示す好例である．

ところが伝統的発酵法を除けば，多種多様な微生物を含む複合培養系を制御できた事例は少ない．微生物学はコッホ以来，微生物を単離培養することには慣れてきたが，複合培養系のノウハウは十分蓄積できていない．

一方で腸内細菌のような複雑系をそのまま解析しようと，メタゲノムやメタボロームといった網羅的解析手法が急速に発達している．複雑系は研究対象として注目を集めつつあるが，その割に「多様な微生物を含む複合培養系は制御困難」というイメージは根強い．

そこで本稿では，複合培養系を制御するノウハウを二つ提案しようと思う．実のところ，たいしたことではない．ただ，筆者が有機質肥料活用型養液栽培[2]という技術を開発するには，複合培養系の発想が不可欠であった．複合培養系の確立に悩む方に，何らかのヒントになればと思う．

理解を深めて頂くため，あえてクイズ形式で進めることをお許し頂きたい．

複合培養系の制御法その1…選択陰圧

あなたなら次の課題にどう答えるだろうか？

「（問）邪魔な木の切り株があります．これを微生物の力で取り除いてください．」

従来の微生物学の発想なら，木の主成分を分解する能力の高い白色腐朽菌などを単離培養し，切り株に投入するといった手法が一般的だろう．しかしこの方法は失敗に終わることが多い．土着微生物に駆逐され，数日で検出限界以下になるだろう．切り株はほとんど影響を受けない．

しかし次のような面白い方法がある．切り株の周りに炭素以外の養分をたっぷり含む肥料を撒くのである．数か月で切り株は土着微生物によってボロボロに分解され，簡単に除去することができる．

なぜ土着微生物が急に働き始めるのだろうか？肥料は窒素やリンなどを豊富に含むが，炭素だけ欠如している．炭素を切り株から補えば，土着微生物はすべての栄養素が手に入る環境ということになる．すると，土着微生物は放っておいても切り株を分解し始めるのである．これと同様の方法が石油漏出事故でも利用される．石油で汚れた岩礁に肥料を撒くと，土着微生物が石油を分解してくれるのである[3]．

単離培養の発想では，優れた微生物を「プラスα」する思考に陥りやすい．しかしその発想では，投入した微生物が環境になじめないまま駆逐されるという問題を克服することができない．

切り株の事例はいわば「マイナスα」の発想である．目的の切り株を「炭素のカタマリ」とみなしたなら，それ以外の養分をたっぷり加えて「炭素欠乏」の環境に土着微生物を追い込む．すると，その中から切り株を分解するのに優れた微生物が活性化する．

筆者はこの手法を選択陰圧と呼ぶことにしている．雑多な土着微生物が生息する農業の現場では，微生物をプ

著者連絡先　E-mail: shsh@affrc.go.jp

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

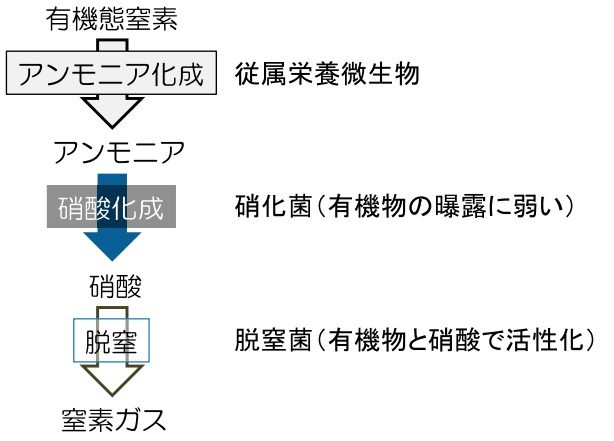

図1．窒素の分解過程．有機物に含まれるタンパク質などの有機態窒素は，アンモニア化成，硝酸化成，脱窒の順で進む．硝化菌は有機物の曝露でダメージを受けやすく，硝酸化成が完全に停止することがある．脱窒菌は有機物をエネルギー源として活性化し，脱窒を起こしやすくなる．

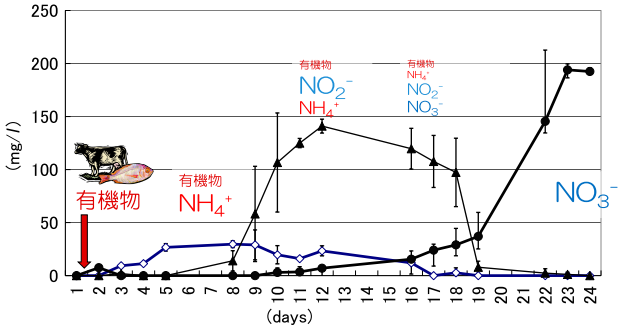

図2．脱窒を抑えた有機態窒素の分解．有機物を初期段階だけの添加にすると，硝酸がこの時点では存在しないため脱窒は進まない．アンモニア化成に続いて硝酸化成（アンモニア酸化，亜硝酸酸化）が進むごとに水中に残存する有機物の存在量が減少する．窒素のほとんどが硝酸に変化した時点では，脱窒菌がエネルギー源として利用できる有機成分はほとんど残存せず，硝酸は脱窒されずに残る．

ラスαする発想よりも，土着微生物自体に働かせる環境誘因を整える方がよい．この着想は筆者が次に有機質肥料活用型養液栽培を実現する上で重要なヒントになった．

複合培養系の制御法その2…構造的選択圧

次のクイズは筆者自身が実際に取り組んだものである．皆さんならどう解決するだろうか．

「（問）タンパク質などの有機態窒素は微生物の分解を受け，アンモニア，硝酸，窒素ガスの順番に変化します（図1）．微生物を利用して，水中で有機物を分解し硝酸を回収して下さい．ただし有機物の添加は硝酸化成を阻害し，脱窒を活性化します．」

有機物から硝酸を作りたいのに，有機物が硝化菌にダメージを与えたり脱窒菌を活性化したりして，硝酸回収を難しくする．この矛盾にどう答えればよいだろうか？

NASAケネディ宇宙センターは90年代，この課題を解決しようと7年間の研究プロジェクトを立ち上げた[4]．宇宙での食料生産を実現するには，乗組員の生活廃水から硝酸など無機養分を生成する技術が不可欠だったからである（注・多くの植物は硝酸がないと健全に生育しない）．

だが，プロジェクトは失敗に終わった．硝化菌のダメージを減らすため，アンモニア化成の段階で有機物を極力分解し，それから硝酸化成用タンクに移す工夫をしたが，残存する有機物が硝酸化成を阻害したり，脱窒を促進したりなどの問題を解決できなかった．

このように，土壌をいっさい使わない養液栽培（水耕栽培）で有機質肥料を使う試みは，140年前に養液栽培が誕生して以降，成功例がなかった[5]．有機物から硝酸を回収する技術が確立できなかったためである．

筆者はこの難題を解決すべく，研究に着手した．課題は二つ．有機物の添加が①硝化菌にダメージを与える，②脱窒菌を活性化する，ことである．

種々の検討の結果，筆者は三つの注意点，（I）微生物源として土壌を少量加える（5～10 g/L），（II）有機物（C/N比11以下の高窒素含有のもの）を最初の数日間，少量（0.1～0.5 g/L/day）加える，（III）2週間以上曝気する，を守れば，水中で有機物を分解し硝酸を回収することが可能であることを発見した[6]．

なぜこんな簡単な方法でうまくいくのだろうか？それは，①硝化菌へのダメージを緩和する，②脱窒菌の活動を抑える，「構造」があるからである（図2）．

有機物の添加量を少量に抑えることで硝化菌のダメージを減らすことは比較的容易である．問題は脱窒の抑制である．コツは「硝酸と有機物を同時併存させない」ことにある（図2）．培養初期には有機物は存在するが硝酸はまだ存在しない．培養後期には逆に，硝酸が存在するが有機物が残っていない．これため脱窒菌が酸素源（硝酸）とエネルギー源（有機物）の両方を同時に利用することができず，脱窒反応を活性化できない．有機物と硝酸が同時併存しないよう「時間差」の構造を設けることで，脱窒を起きにくくするのである．

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

このように「構造」が活性化する微生物と不活性化する微生物を決定する制御法を，筆者は「構造的選択圧」と呼ぶことにしている．構造を適切にデザインすれば，雑多な微生物を含む複合培養系でも目的の機能を引き出すことが可能である．

「群集」の共通点

研究者らしからぬ話ばかりで恐縮だが，構造的選択圧はサッカーに似ている．バレーボールや野球でも足を使ってかまわないが，足技が発達することはない．しかしサッカーは「手を使わない」ルールを定めるだけで足技の発達を促進している．しかも参加者は嫌々ではなく，自主的に足技を磨こうとする．

経済学者のスーザン・ストレンジはこの現象に注目し，ルールという構造が参加者の自主的な従属を促す力を「構造的権力」と呼んだ[7]．構造的権力では新参者も自主的にルールに従うので，メンバーひとりひとりをいちいち監視しなくてよい．これに対し親分が子分に力で従わせる「関係的権力」は，監視の及ぶ範囲までしか支配できないので，支配人数に限りがある．

構造的選択圧も同様に，構成する微生物のメンバー（微生物相）を気にせず，活性化したい機能とそうでない機能を環境構造で規定し，複合培養系から所期の機能を引き出す手法である．

「選択陰圧」は攻城戦に似ている．城攻めでは包囲の一部を手薄にする[8]．すると「あそこから逃げられるかも」という期待が城兵の戦意を鈍らせる．やがてそこに向かって一斉に逃げ出せば，城をたやすく手に入れることができる．堰の一穴から水が吹き出るように．微生物も水も人も，群集は選択圧のない方向へと動き出す性質がある．選択陰圧はその性質を利用する手法である．

おわりに

もうおわかりのように，選択陰圧や構造的選択圧は日常生活から理解できるものに過ぎない．「複合培養系のノウハウ」といっても，発想の転換でしかない．

しかし，有機質肥料活用型養液栽培が140年も実現できなかったところをみると，発想の転換は意外に難しいのかもしれない．微生物一つひとつを完全に把握し制御しなければ，という思いこみが大きな原因だったのではないかと思われる．視点を一つひとつの微生物ではなく，微生物を取り巻く「構造」に移せば，再現性の高いさまざまな手法を開発できることだろう．

たとえば微生物バイオでは，屋外プールのような開放系の大量培養が実現すれば大幅なコストダウンが図れるのに，コンタミが原因でうまくいかないことが多い．そうした場合に複合培養系の制御ノウハウを適用すれば，克服できるケースも増えてくるだろう．

複合培養系の制御はこれからの技術である．今後もさまざまな手法が開発され，複合培養系の技術が体系化されることを期待したい．

文　献

1) Koboziev, I. *et al.*: *Free Radic. Biol. Med.*, **68**, 122 (2014).
2) 篠原　信：生物工学会誌，**91**, 613 (2013).
3) Atlas, R. M.: *Int. Biodeter. Biodegr.*, **35**, 317(1995).
4) Stutte, G. W.: *Life Support Biosph. Sci.*, **3**, 64 (1996).
5) Ikeda, H. and Osawa, T.: *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, **50**, 225 (1981).
6) Shinohara, M. *et al.*: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **57**, 190 (2011).
7) スーザン・ストレンジ：国家の退場，岩波書店 (2011).
8)「孫子」第八篇　九変.

NII-Electronic Library Service