

## 2022 年度 NBRP ゾウリムシ運営委員会(2 回目) 議事録

日時：令和 4 年 10 月 18 日 (火) 10 時 30 分～11 時 30 分

場所：Webex 会議

出席者(敬称略)：

### 運営委員：

石田正樹(委員長、奈良教育大学理科教育講座 教授)、岩井草介(弘前大学教育学部 准教授)、岩本政明(日本大学文理学部 教授)、柴田あいか(筑波大学下田臨海実験センター 研究員)、道羅英夫(静岡大学理学部 教授)、西上幸範(北海道大学電子科学研究所 助教)、保科亮(長浜バイオ大学バイオサイエンス学部 助教)、度会雅久(課題管理者、山口大学共同獣医学部 教授)

### オブザーバー：

古田和輝(文部科学省研究振興局ライフサイエンス課)、鈴木智広(NBRP 事務局、国立遺伝子学研究所)、高祖歩美(NBRP 広報室長、国立遺伝子学研究所)、川本祥子(NBRP 情報センター、国立遺伝子学研究所)

### 陪席者：

橘理人(課題管理参加者、山口大学中高温微生物研究センター 助教)、鍵谷征範(山口大学学術研究部)、折崎真哉(山口大学学術研究部)

---

## 議題

議事に先立ち、度会委員から配布資料の確認、および資料 3 に基づき、運営委員会参加者と柴田委員の所属変更が報告された。

### 1. 報告事項

#### (1) 令和 4 年度 NBRP ゲノム情報等整備・基盤技術整備への応募と審査結果

度会委員から、ゲノム情報等整備と基盤技術整備の両方とも不採択であった旨、報告があった。また、評価委員からの講評について以下とおりの概説があった。

#### 【ゲノム情報等整備(度会委員と道羅委員との共同で応募)】

小核ゲノムの配列から決定すべきではないか、準備不足である(予備的な結果の不足)、プロジェクトの意義は理解できる等のコメントがあった。

また、ヘテロなままで読んでよいのかという指摘もあった。通常実験で用いるものでシーケンスして、それをリファレンスゲノムにした方が実験としては使いやすいではないかと説明したが、ゾウリムシの核の性質がうまく伝わらなかった。

#### 【基盤技術整備(度会委員単独で応募)】

5 年前にも同じプロジェクトに応募し採択されているが、その内容の引き継ぎがうまくいっていない。予備的な結果がないため、成果の感触がつかめない。研究体制の構築にも課題がある。今回、山口大学のみチームで応募したがもう少し外部の方々にも参

画してもらったほうがよかった。

## (2) 事業中間報告

度会委員から、以下のとおり事業中間報告の説明が行われた。

- ・今年度の提供数が9月末時点で76本であるが、10月に入り何本か提供しており、残り半年あることも踏まえ、目標の200本には達するのではないかと考えている。
- ・利用者数は15名であるが、10月に入り利用者の増加があり、残り半年あることも踏まえ、目標の25名に達するのではないかと考えている。また、研究・教育を目的とした新規の利用者が3～4人いた。広報活動を継続して行っていくことで、新規の利用者を獲得していく予定である。

## (3) 広報活動

度会委員から、以下のとおり広報活動の説明が行われた。

【第96回日本細菌学会総会(2023年3月16日～18日、姫路)、  
ワークショップ「バイオリソースを用いた感染モデルの構築」開催】

NBRPで保存されている様々なリソースを用いた感染モデルの研究紹介が行われる。今回はゾウリムシ、ゼブラフィッシュ、カイコ、シロイヌナズナ、線虫の紹介。他にも感染モデルがあるため、次年度も類似のワークショップを開催したい。

【出版社エヌ・ティー・エス、『微生物資源の整備と利活用の戦略』への執筆依頼】  
NBRPの本部が企画しているもので、各リソースの紹介を行う。

【ポスター展示：日本動物学会、日本バイオインフォマティクス学会、日本植物学会、BioJapan】

※この後、石田委員長から以下のとおり質問があった。

(石田委員長)

昔はゾウリムシのエサとしてクレブシエラを導入し使っていたが、これは肺炎桿菌であるため換えるということであったが、それはどうなったのか。

(橘 課題管理参加者)

新規利用者に提供する際に、その人の研究室ではBSL2は扱えないため、大腸菌に置き換えて渡した。大腸菌がNBRPゾウリムシで使っているレタスジュース培養液でも増えることを確認した。しばらく継代してみたが、増殖に関して問題なかった。今後もBSLに対応できない研究室に渡す際には、大腸菌等に置き換えたい。ベストな方法は、無菌的な培養になる。色々な培養液でチェックしながら、より安全で広めやすい培養液にかえていきたい。

(石田委員長)

エビオスや強力わかもと等で代用するといった話もあったが、それはどうなったのか。

(橋 課題管理参加者)

それらを使っても問題ないとは思いますが、エビオスや強力わかもと自体で増えているのか、エビオスや強力わかもとの栄養を利用して元々入っている菌が増えて結局それをエサにしているか等わからない。分譲する時点で、既にこちらでクレブシエラを入れているとエビオスの培養液でも増える、完全な無菌状態からエビオスだけで増やすことも可能だと思うが、それが全部のゾウリムシ種・株で可能なのか等、確認がとれていない。安全な培養方法は常に追求すべきであるため、他の先生方の培養方法のアイデアを教えてください。

(石田委員長)

二つのフィルターを使って洗うのが手っ取り早いかもしれない。一つは、25 $\mu\text{m}$  ぐらいのプランクトンネットの素材をシリンジの先にイエローチップで付けて、あらかじめ大きいゴミをフィルタリングする。その次に、5 $\mu\text{m}$  ぐらいのミリポアフィルターを使って、ゾウリムシを含めた 5 $\mu\text{m}$  より大きいものを集め出す。ここから出発して、さらに数回洗浄し、無菌化に向かう。前述のことはホームページ上に掲載している。

(岩本委員)

大腸菌で飼った時のゾウリムシの細胞密度、および定常期に至るまでの増殖速度(曲線)は、クレブシエラに比べどうか。

(橋 課題管理参加者)

クレブシエラに比べ大きな問題はない。ただし、大腸菌がゾウリムシの培養液の中で、クレブシエラほど急激に増えないため、培養液に十分菌がいなくて、それでゾウリムシに悪影響がでることが懸念される。大腸菌は特殊な株だと、BSL2に上がる可能性があるため、一般的なDH5 $\alpha$ を使用した。クレブシエラはゾウリムシに適した株を使っており、大腸菌でもゾウリムシが好む株が見つければよいと思っている。

#### (4) その他

度会委員から、以下2件の報告があった。

##### 【NBRP 細胞性粘菌の運営委員会への参加】

10月7日(金)に開催されたNBRP 細胞性粘菌の運営委員会にオブザーバーとして参加した旨、報告があった。そこで議論となったのは、我々も抱えている利用者の拡大について問題であった。「(3) 広報活動」で報告した内容を、この運営委員会でも紹介し、学会でのワークショップを共同開催できたらいいのではないかと提案をした。

##### 【前回の運営委員会で頂いた意見への対応について】

教育用としてゾウリムシを活用した方がよいのではないかという意見について、対応していきたい。新規のユーザも使いやすくなるように、エサもセット提供できるような体制を今年度中に整えたい。セット提供が整えば、理学部、農学部にも教育用とし

て使えないかアプローチしてみたいと考えている。

原生生物学会にゾウリムシの分譲サービスがあるため、そこと統合した方がよいのではないかと意見があったが、堀学副会長に相談している。

### 3. 協議事項

#### (1) ゲノム情報等の整備と凍結保存について

度会委員から、今後の対応について以下の通り説明が行われた。

外部資金のないところで活動を継続しなければならない。皆様のご協力のもと、皆様方で外部資金が獲得できた際には、その研究を通して実施していただきたい。山口大学では、ゲノム情報等の整備は外部資金が全くない状況で進めるのは難しいので、凍結保存をメインとして進めていく方針である。

凍結保存の経過について、橋課題管理参加者から以下の通り説明があった。

DMSO を使用するとうまくいかないため、毒性の少ない溶媒として、双性イオン液体に注目している。金沢大学にゾウリムシを送り、試してもらっている。今後は、双性イオン液体以外の方法も試せる場合は試したい。

#### 【発言要旨】

#### 凍結保存について

(石田委員長)

前回の運営委員会で、北海道のような寒冷地 (-10~-5℃) と同じように凍結すればうまくいくのか、-30℃ぐらいにする必要があるのか等が気になっている。

また、季節的に温度の低い状況に慣れていくのかも気になっている。遺伝的に何かを発現する等の準備を経て、低温に耐えられるのか確認するために、段階的に温度を下げる実験を計画している。これらのことを確かめようとしている方はおられるか。

(西上委員)

前回の運営委員会のコメントを踏まえ、北海道産のブルサリアと種が不明の株を一株づつ維持できおり、提供できる状態になっている(山口大学に送っていただき同定をする)。シスト化すると思っており、いくつかゲルに入れて乾かしたりしているがうまくいっていない。

アガーをつぶして、その中に細胞入れ(温度は5, 10, 20, 25℃ぐらい)、1カ月ぐらい乾かし、その後冷凍してみる等、色々試してみたがうまくいっていない。1カ月ぐらいゲルの中に入れ、泳げない状態(シスト化している訳ではない)になっても生きている。そのまま冷凍はできない。

(石田委員長)

凍結保存の時の DMSO が細胞に浸透する時間が重要との話もある。混ぜ方の問題もあるのかと思っているがなかなかうまくいかない。

(岩本委員)

プログラムフリーザを使ったゾウリムシ凍結保存方法に関する論文(2009)について、温度の急変が重要とする内容であったが、マニュアルでその温度変化の再現は難しい。山口大学のプログラムフリーザで試してみてもらいたい。ただし、プログラムフリーザでうまくいったとしても、どこにでもある装置ではないため、誰でもできるような方法の開発が必要である。

## ゲノム情報等の整備について

(石田委員長)

ゲノム情報等の整備について、大核のほうで進んでいるのだという業界の常識を相手に伝えることではうまくいかないのか。

(道羅委員)

そのあたりは説明したつもりではある。実際に利用者が使用している株は大部分がヘテロであり、発現しているのは大核である。遺伝子発現解析をするにも、大核から発現しているトランスクリプトームをみるので…のような話をしたが、結論としてまず小核の配列決定を目指すべきとのことだった。

(度会委員)

道羅委員としては、何とか外部資金を導入して、ゾウリムシのゲノムの解析に関する研究は続けていくつもりであるか。

(道羅委員)

ゾウリムシの中全体をゲノムで理解する意味で、ゾウリムシのゲノムの解析に関する研究を続けていきたい。ディープに読めば、小核もシーケンスできなくもないが、きれいに分離できるかわからない。そのあたりも含めやっていって、どこまで成果がでるか。

(度会委員)

ゾウリムシに病原体のゲノムも含まれている可能性があるため、それも解析できれば、感染症の疫学調査にも役立つことを示すことができるため、非常に興味深いテーマになるのではと思っている。またチャンスがあれば、道羅委員やその他委員と外部資金に応募できればと考えている。

## (2) その他

### 【広報活動について】

(NBRP 情報センター・川本先生)

日本細菌学会でワークショップ以外に展示ブースを出す予定があるか。

(度会委員) 今回は計画していない。今回の反響を見て、次年度以降検討したい。

(石田委員長)

原生生物学会は、来年は感染研、その次は山口大学で計画されている。その時にワークショップ等実施してはどうか。

(度会委員)

感染研及び山口大学で開催される際に、何か活動したいと考える。

(石田委員長)

以前山口大学で開催された際は、施設見学も行われていた。

(度会委員)

施設見学は可能と思う。運営委員会とは別に、原生生物学会等の機会を利用し、委員の皆様と対面で意見交換できればと考えている。

(岩本委員)

毎年分子生物学会に NBRP のコーナーがあるが、今年もあるのか。

(高祖先生)

今年度から分子生物学会に利用者がいると思われるリソースのうち、希望するリソースのみ出展する方法が変わった。NBRP コーナーは端の方になる傾向があるので、ブース出展という形で人が来るようなエリアへの出展になっている。

(度会委員)

ゾウリムシも出展を希望している。