

鹿児島県離島振興協議会  
2019年度アイランドキャンパス事業  
実施報告書

# 宝島の鍾乳洞に生息する 特殊な微生物の探索

(第2版)



鹿児島大学工学部化学生命工学科  
生体・材料ハイブリッド研究室  
(担当教員：上田岳彦)

## 1. 事業の概要

本事業は、難分解性廃棄物の分解を助ける宝島固有の新規微生物を探索して、鹿児島県鹿児島郡十島村の知的財産として確立することを目的とした。

島嶼域の極限環境下に生息する特殊な微生物は、通常的环境に生息する微生物とは異なり、乏しい栄養源を巧みに代謝する機能や熱・酸・アルカリに対する耐性の強い酵素群を進化させている場合が多い。隆起サンゴ島である宝島の観音堂洞窟のように、高硬度水で炭素源に乏しく光合成による  $\text{CO}_2$  固定も進まない特殊環境では、たとえマイクロプラスチックのような分解しにくい炭素源でさえ利用しようとするような微生物群が発達している可能性がある。当研究室では、分解産物である  $\text{CO}_2$  の排出を活発に行う微生物を選択的に分離するマイクロスフィア・スクリーニング法を開発した。この方法による宝島での新規微生物の単離は、その地域固有の生物資源としての価値を見出し、その遺伝資源と培養のノウハウを知的財産として確立することにつながるであろう。

本年度の研究期間内には、洞窟内のサンプリングを安全に行える体制づくりと基礎訓練を行い、洞窟内のサンプリング地点を特定できるように正確に洞窟の形状を測定する 3D サンプリング方法を構築した。次に炭素源である海洋漂流廃棄物の洞窟への輸送経路に関する仮説と、洞窟内での炭素源の流体力学的な輸送と局所的なくぼ地（キャビティ）などへの集積状況をあらかじめ推定した。これらは効率的なサンプリングが行えるために必要な準備である。

続いて現地調査活動として洞窟の形状分析を行い、精度の高い洞窟の 3D 地図を構築した。想定したサンプリング候補地において漂流廃棄物由来のプラスチックが確認できるかどうかを調べ、さらに分解産物や有機物由来の土壤成分が視認できる地点をサンプリング地点として選定した。このような適切なサンプリング候補地において複数の土壤サンプルを得たのちに、マイクロスフィア・スクリーニング法を実施する準備に入った。

本法は微小なガラス容器 ( $50\ \mu\text{m}$  直径) にそれぞれ 1 個体の微生物を導入して、水中において元の環境と同じ温度下で維持することで、ガラス容器内において分解産物としてのガス成分 (メタン、水素、 $\text{CO}_2$ ) の拡散が抑制され気泡化することで容器ごと微生物が浮上してカウントされるという方法で海洋漂流廃棄物の分解活性を検出するものである。極限環境微生物の大多数は増殖速度の遅い難培養性微生物であるため、マイクロスフィア・スクリーニング法により検出されるまでには実環境における代謝速度と同様にかかなりの時間を要するため、本報告書作成の時点では未だ検出には至っていないが、今後暗所一定温度で長時間培養することで浮上したガラス容器から得られるであろう遺伝資源が本研究の最終的な成果となる。

本研究は、生物多様性条約、名古屋議定書の精神に基づき、遺伝資源の利用から生ずる利益の公正かつ衡平な配分(ABS, Access and Benefit Sharing)を前提として、十島村から有用な遺伝資源を発掘してその価値を明らかにした上で、原産地の遺伝資源、知的財産、伝統的ノウハウなどを保護するとともに、その権利化および産業化に資するために行われた。

また本研究は、鹿児島大学工学部化学生命工学科における学外実習活動の一環として、地域資源の産業化を実現する社会的仕組みづくりを考察し、特に宝島の微生物資源としてどのようなものがあり得るのか、それをどのように利用するのか、その権利をどのように守るのかをデザインする活動としても実施された。参加者は次のとおりである。

安達 大輔(大学院理工学研究科化学生命・化学工学専攻 博士前期課程 2年)  
粟根 有香(工学部 化学生命工学科 4年生)  
沖 大斗(工学部 化学生命工学科 4年生)  
高瀬 綾香(工学部 化学生命工学科 4年生)

実施期間：2019年8月1日～2020年2月29日

現地調査実施期間：2019年11月4日～2019年11月8日

現地調査地：鹿児島県鹿児島郡十島村宝島

## 2. 背景と研究意義

近年、地域の農業生物資源やその他の遺伝資源、さらにはそれらを直接間接に用いた生活知や産業ノウハウなどの広い意味での知的財産が、国際的な枠組みの中で保護され、それらを利用した産業やその利益などに対する所有権を原産地域に明確に帰属させる体制が整いつつある。国際的枠組みとしての生物多様性条約、名古屋議定書、そしてその中で提唱されている ABS (遺伝資源の利用から生ずる利益の公正かつ衡平な配分) という考え方は、多様な自然に恵まれた島しょ地域の発展にとって非常に重要な機会をもたらすものであると言える。

重要な遺伝資源として注目されているものとして、未だ詳しく調査されていない環境における有用微生物の発見が挙げられる。特に本研究が対象とする特殊な微生物とは、栄養源が限られており複雑な代謝を行わないと細胞の素材としては利用できない、つまり資化の困難な炭素源・窒素源しか得られない環境で、しかもエネルギー源としてせいぜい無機的な酸化力(酸素または硫黄化合

物) にしか頼ることのできない環境に生息する微生物である。そのような微生物は未知の新たな代謝経路を有するように進化しているに違いない。新規な物質変換系を構築し、海洋漂流廃棄物を主な栄養源として代謝するための酵素群の遺伝子を有していると期待できる。またそのような未知の酵素群は、本来人工的な合成が困難な医薬品を簡便に製造できる実用的な方法を提供するきっかけにもなり得るため、その有用性は計り知れない。

極限環境に生息する微生物は、このように高度な炭素源活用方法を進化させ、多様な化学エネルギー源を利用する進化を伴い、また酵素その他の生化学分子群の顕著な熱・化学安定性を有している場合が多い。飽和に近い炭酸カルシウム水環境である鍾乳洞内は（よく知られた）一般的な土壌微生物群が容易には生息できない環境であり、極端にその環境に適応した微生物だけが生き残れる環境である。我々はそのような環境の候補として、宝島の観音堂洞窟を選んだ。

同様の観点から、同じ十島村の小宝島においては、温泉水中から特殊な古細菌が発見され、その高度好熱菌としての細胞内酵素の熱安定性を利用して、一般的な遺伝子の検出に用いる PCR 法用の耐熱酵素が産業化されている（新型コロナウイルスの診断用にも利用されている）。もしも宝島において海洋漂流廃棄物を資化する微生物が発見され、その遺伝子から廃棄物を分解して燃料ガスを産生するような酵素群が見つければ、近年問題視されている海洋マイクロプラスチックの分解と発電用ガスの産生を同時に行うような有用性の高い応用が可能となり、地域産業への波及効果は非常に大きい。

### 3. 宝島の地理的・地形的特性

宝島は隆起サンゴ礁起源の石灰岩地質であり、鍾乳洞が発達している。鹿児島県トカラ列島の南端で奄美大島の北に位置しており、東シナ海を北上する黒潮の経路上にあるため、海流によって海洋漂流廃棄物はその南西海岸に漂着しやすい。また、宝島の観音堂洞窟はその入り口が南西海岸に近接して位置しており、南風から西風により特に流径の小さいマイクロプラスチックが洞窟内へと導かれやすい位置関係にある（図1）。

南西海岸と洞窟入り口近くの年平均風速・風向は調査中であるが、気象データから別途見積もり、流体力学的シミュレーションを準備中である。洞窟が全体として単一のキャビティ構造なのか、または奥で別の出口に連結したチューブ構造なのかははっきりしないが、入り口から奥には大きく2方向に分岐しているため、トーラス構造である可能性も考えられる。調査中に経験したところでは、奥に向かっての気流が確かに存在し、風により奥まで微粒子（マイクロプラスチックなど）が導入される可能性は高い。



**図1 宝島観音堂洞窟** a)周辺地図、b)地形立体図（南側視点から北向き透視）  
高さは3倍に強調。地図データ出典：国土地理院

<https://maps.gsi.go.jp/#16/29.146567/129.196236/&base=std&ls=std&disp=1&vs=c1j0h0k0l0u0t0z0r0s0m0f1>

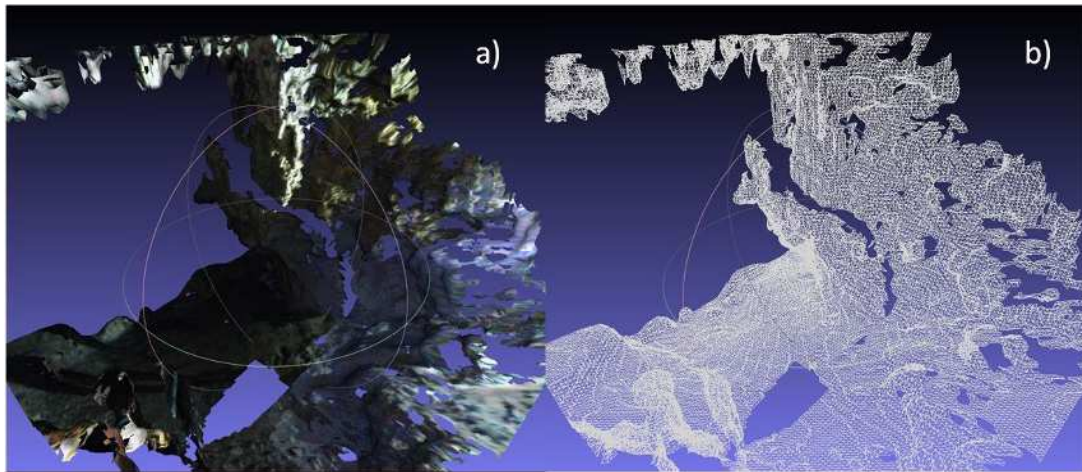


**図2 赤外レーザー3Dスキャンニングのオペレーション**

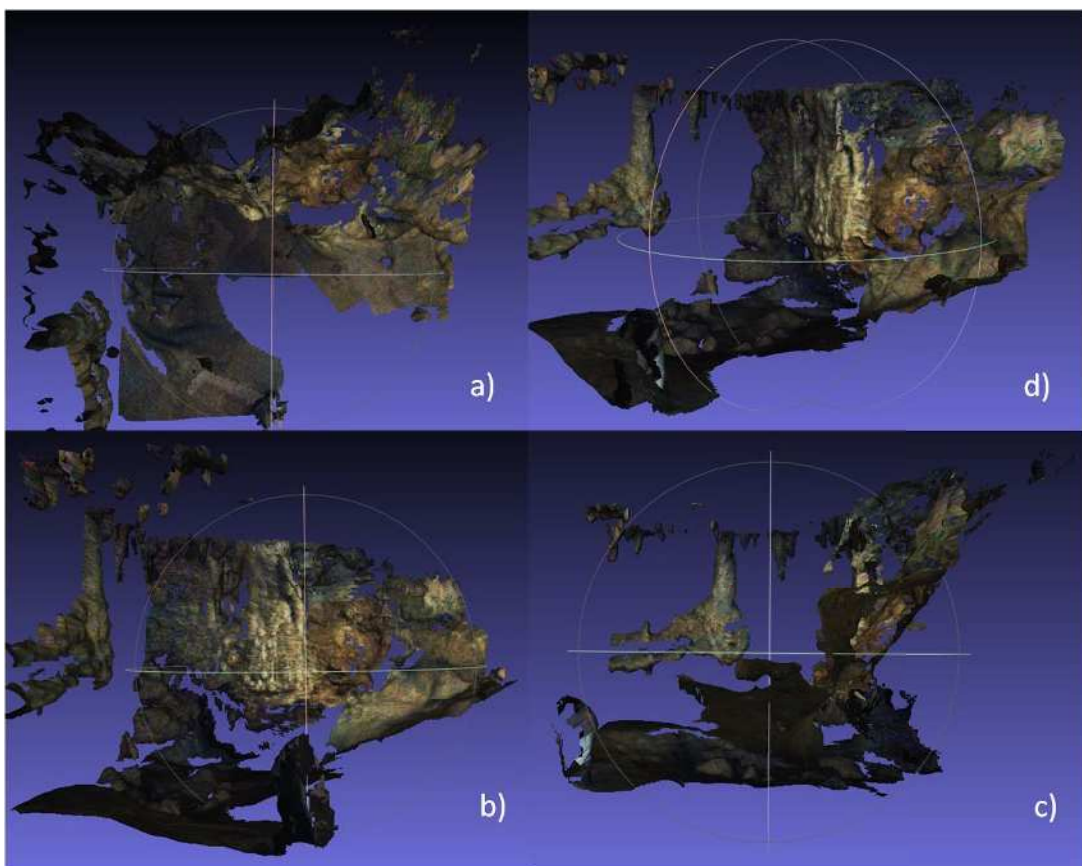
#### 4. 観音堂洞窟の3D形状スキャンニング

観音堂洞窟内において、調査中に選んだ炭素源が集積していると推定される局所キャビティの位置を客観的に特定するため、洞窟内の3Dスキャンニングを行った。iPad オペレーションの赤外レーザー3D スキャナ (Occipital Structure Sensor) を用いて横3 m×縦3 mの範囲の深度データを測定し (図2)、互いに連結しながら全体像を構築した。深度データは加速度センサを用いて視点の移動を測定して視野補正することで3D座標データに変換し (図3)、表面の色彩データをマッピングした OBJ 形式3Dモデルに変換した (図4)。また、全連

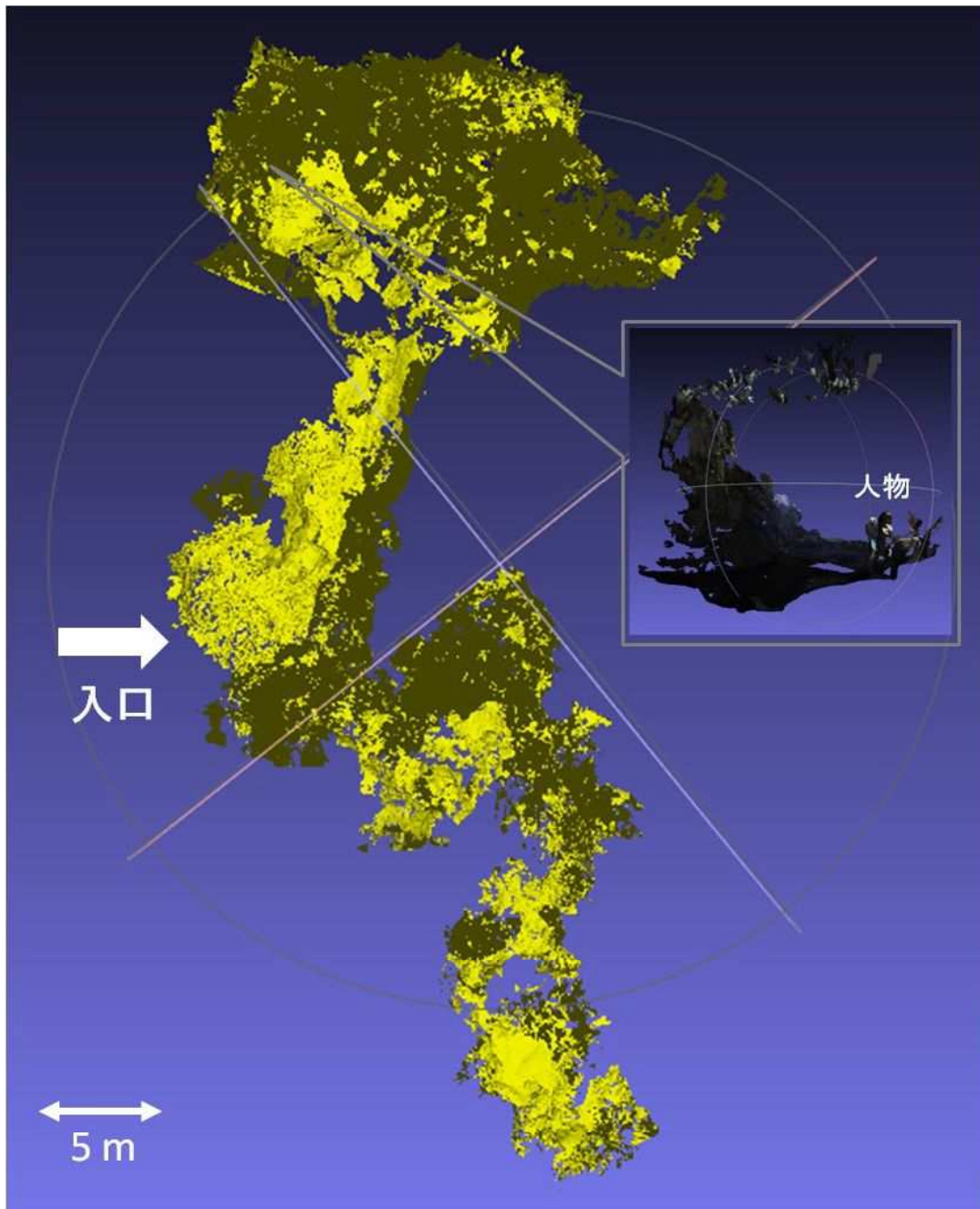
結の3D地図を図5に示した。



**図3 洞窟内部の3Dレーザースキャン（部分）** a)表面マッピング表現、b) 3Dメッシュ座標プロット



**図4 洞窟内部の3Dレーザースキャン（部分）** a)上面図、b)前面図、c)側面図、d)透視図



**図5 観音堂洞窟の調査範囲の全連結3D地図** 矢印は洞窟入り口。そこから北東方向と南東方向に大きく2分岐している。北東方向は単純な回廊を経て全長およそ35mの3Dスキャンを行った。北東方向最深部には高さ5m程度のキャビティがあった（挿入図：人物とともに3Dスキャンした立体図）。ろうそくの燃焼も正常で酸素供給も充分であった。南東方向は複雑な屈曲を経て全長およそ45mの3Dスキャンを行った。南東方向最深部ではさらに奥へと流れる気流を経験した。

## 5. 土壌サンプリング地点の選択と試料採取

サンプリング地点の候補が有すべき条件として、1) 外部から輸送された微粒子の炭素源（海洋漂流廃棄物由来）が堆積することのできるキャビティ状の形状であること、2) それが滲出した地下水を一定期間貯留できるように鉛直下方に向いたキャビティであること、3) 石灰岩や鍾乳石のみからなる表面は避け、実際にそこに堆積物があり、鍾乳石などの洞窟生成物とは異なる成分からなる土壌を形成しているように目視されること、4) 実際に廃棄物由来のプラスチックが目視で確認できること、の4点を課した。

現地調査の結果、条件4)を満たす候補地点では、過去の調査活動や人工的な設置物の分解産物とみられるプラスチックがしばしば見て取れた。ロープ断片（ポリエチレン）、ボールペンの一部破片（ポリカーボネイト）、また何かプラスチック容器（ポリスチレン）の溶融物破片などが見られ、想定している仮説（海洋漂流廃棄物由来マイクロプラスチック）以外に、少なくとも調査範囲内では人的活動由来の外部炭素源の導入が見られた。これは、商業的に見学者を受け入れる多くの鍾乳洞で見られる傾向であり、観音堂洞窟も既に以前とは異なる外部環境由来の生態系が発達し始めている可能性がある。

選定した候補地点の特徴は次の通りである(数値はサンプル通し番号)。Point 1: (図6 1. 入り口左奥の糸の付近の土; 2. 糸の裏の土、3. 糸に付着した土、4. 糸の裏の土 (1)、5. 糸の裏の土 (2)、6. コントロール: 糸のない箇所、7. コントロール: 炭素源がないと思われる箇所、8. コントロール: 炭素源がないと思われる箇所、9. コントロール: 炭素源がないと思われる箇所、10. コントロール: 炭素源がないと思われる箇所、11. コントロール: 炭素源がないと思われる箇所); Point 2: (図7 12. コントロール: 入り口から左に行った道中); Point 3: (図8 13. 木の付近の土、14. 朽ちた木の付近の土、15. コントロール); Point 4: (図9 16. ビニールの付近の土、17. ビニールの表面の土、18. ビニールの付近の土、19. コントロール: 土、20. コントロール: 土); Point 5: (図10 21. コントロール: 土 (くぐる直前付近のやわらかめ土)、22. コントロール: 土 (くぐる直前付近のかための土); Point 6: (図11 23. ペンの後尾付近の土、24. コントロール: 土、25. コントロール: 土); Point 7: (図12 26. 赤いビニールの裏の土、27. コントロール: 土 (やわらかめ)、28. 赤いビニールテープの下の土、29. 赤いビニールテープの下の土、30. コントロール: 土); Point 8: (図13 31. 焼け跡の土、32. コントロール: 土 (茶)); Point 9: (図14 33. 赤い紐付近の土、34. コントロール: 土、35. 電球付近の土、36. コントロール: 土)



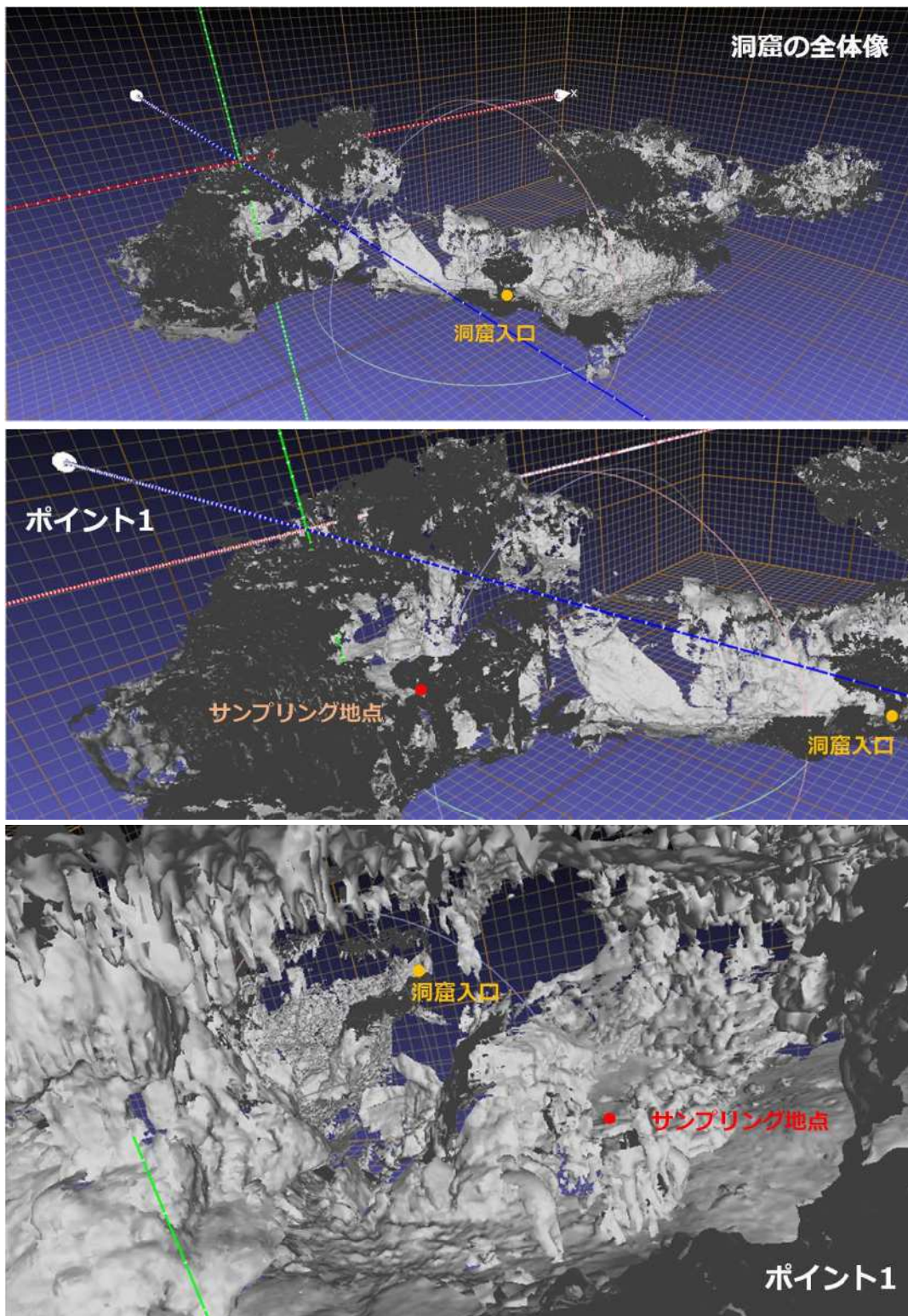


図6 サンプリングポイント1

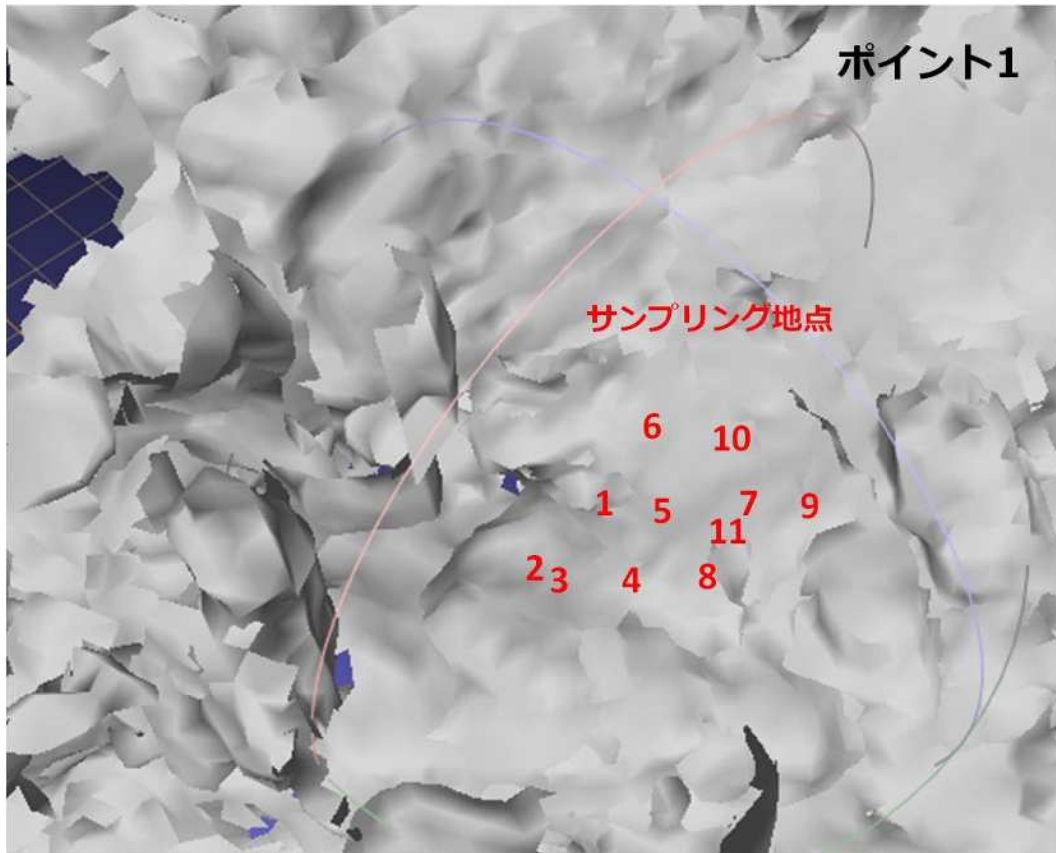


図6（続き） サンプリングポイント1 数字はサンプル通し番号

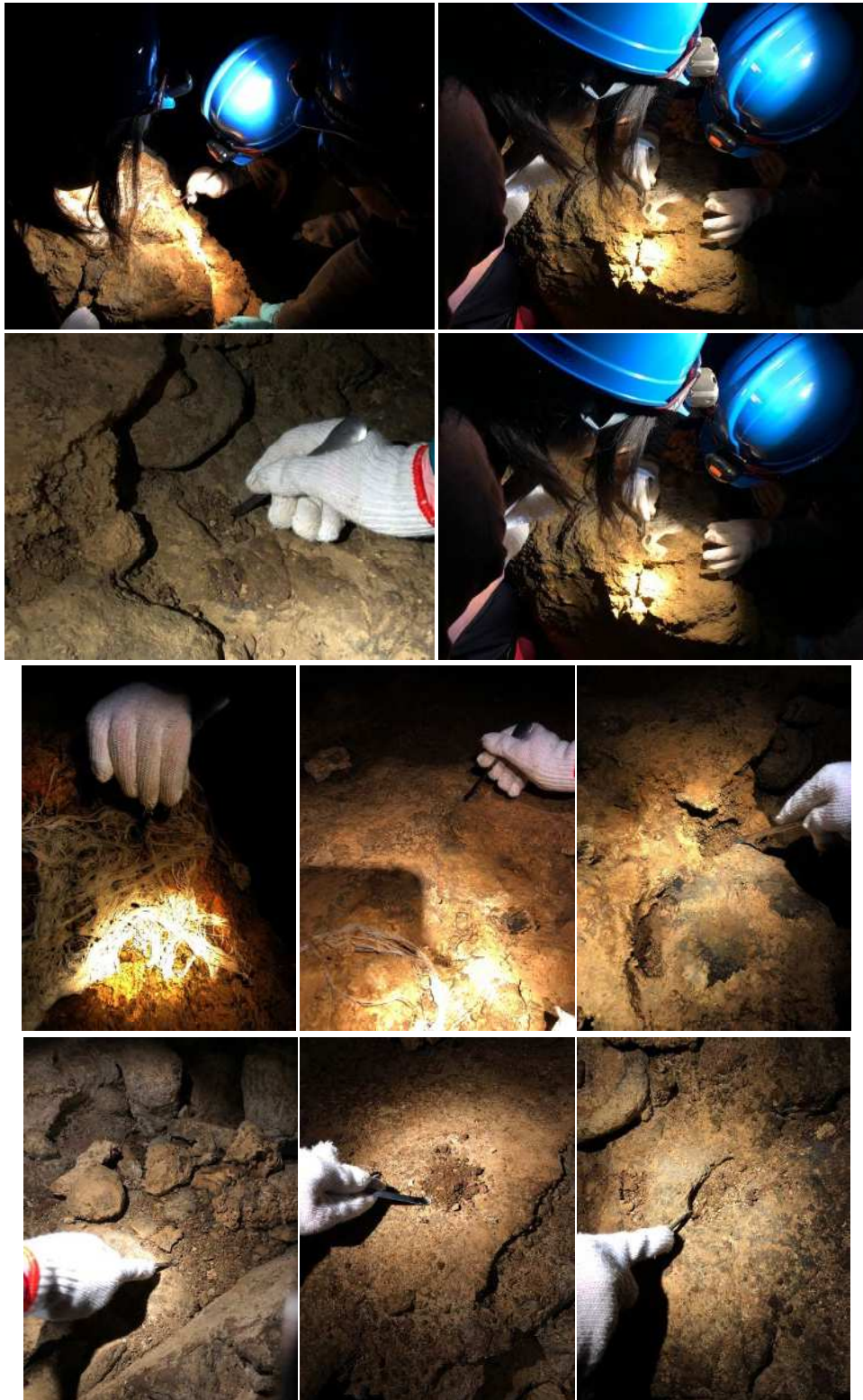


図6（続き） サンプルングポイント1

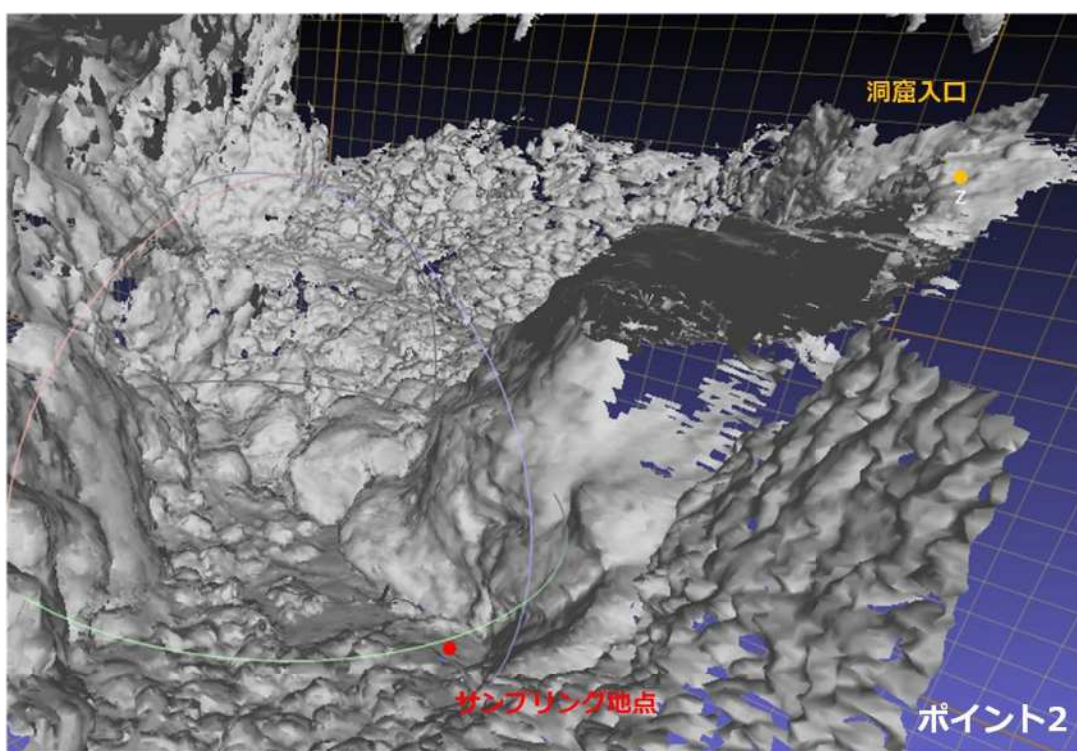
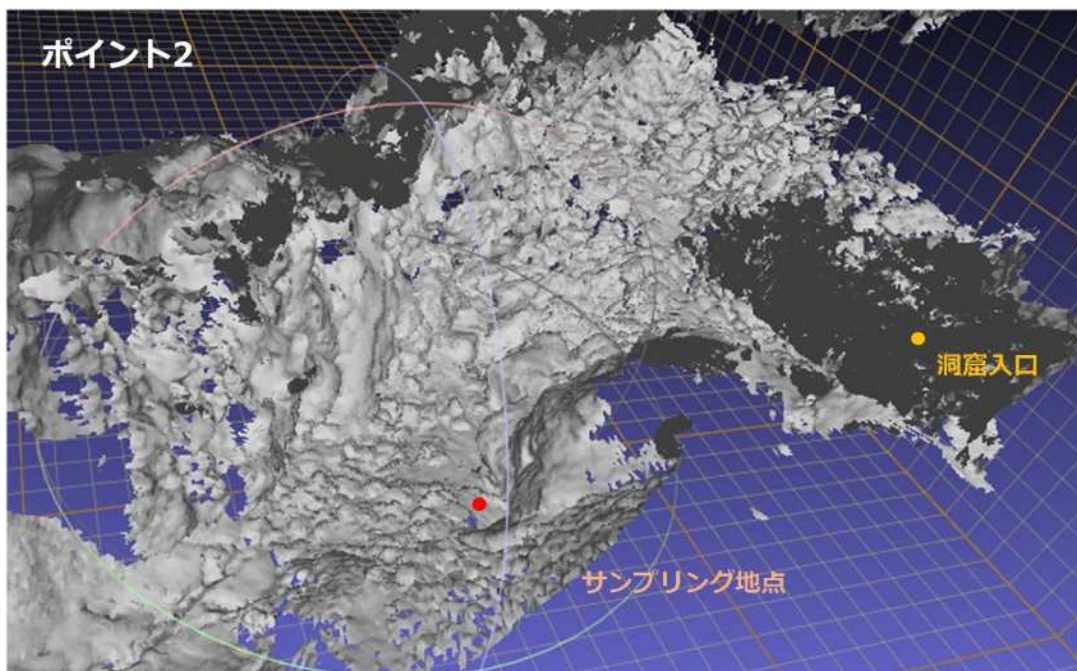


図7 サンプリングポイント2

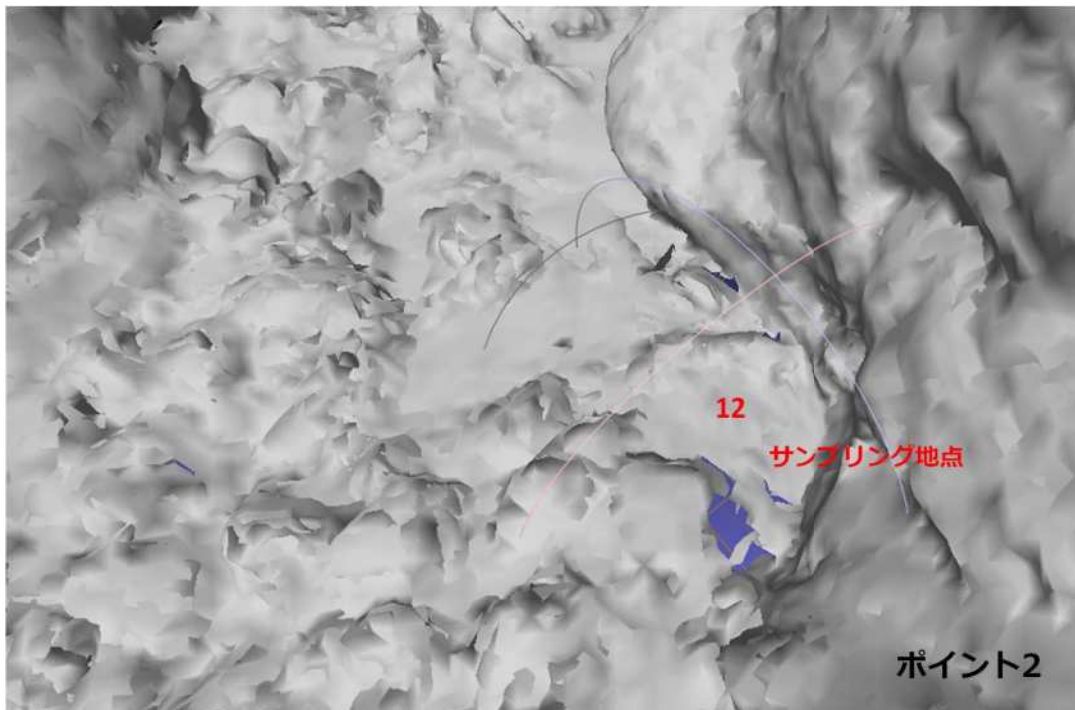


図7 (続き) サンプリングポイント2 数字はサンプル通し番号

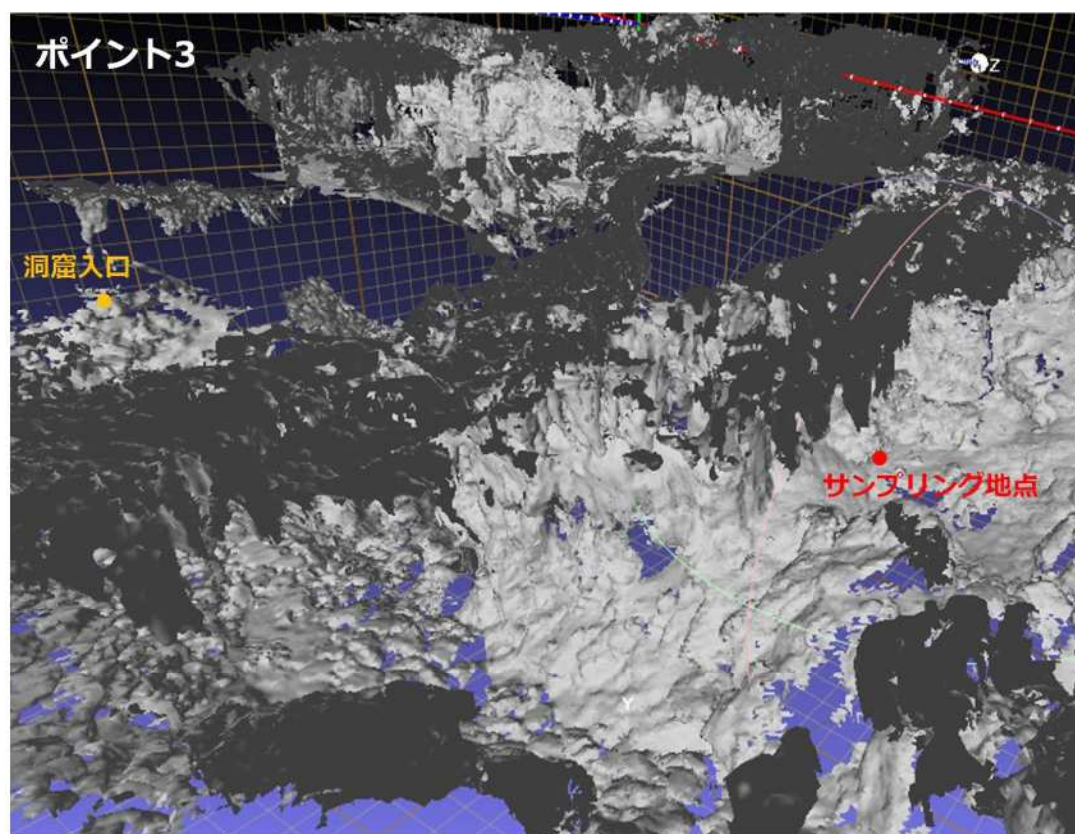
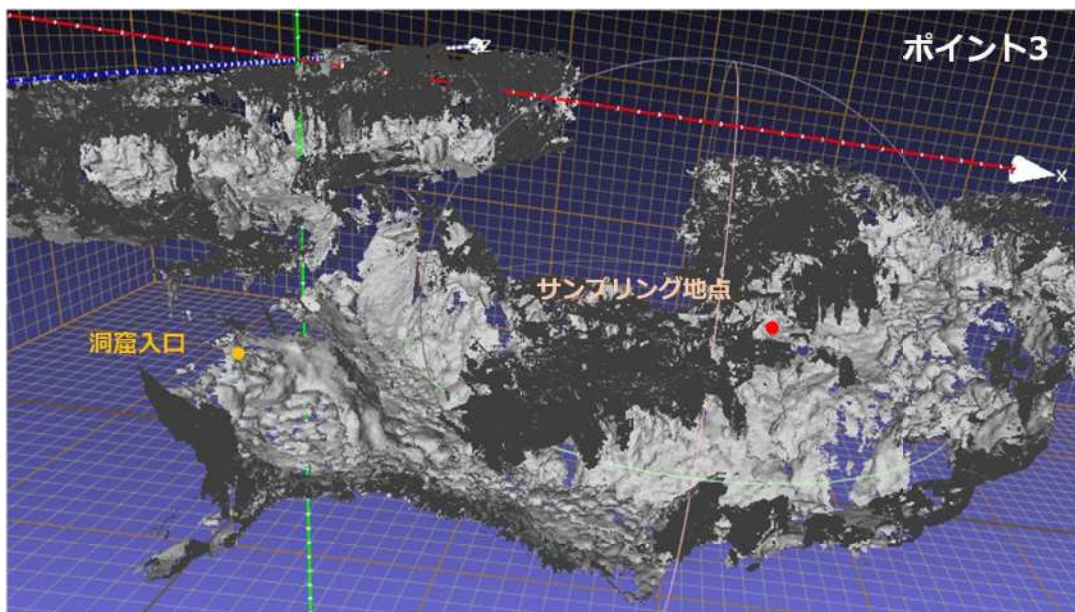


図8 サンプリングポイント3

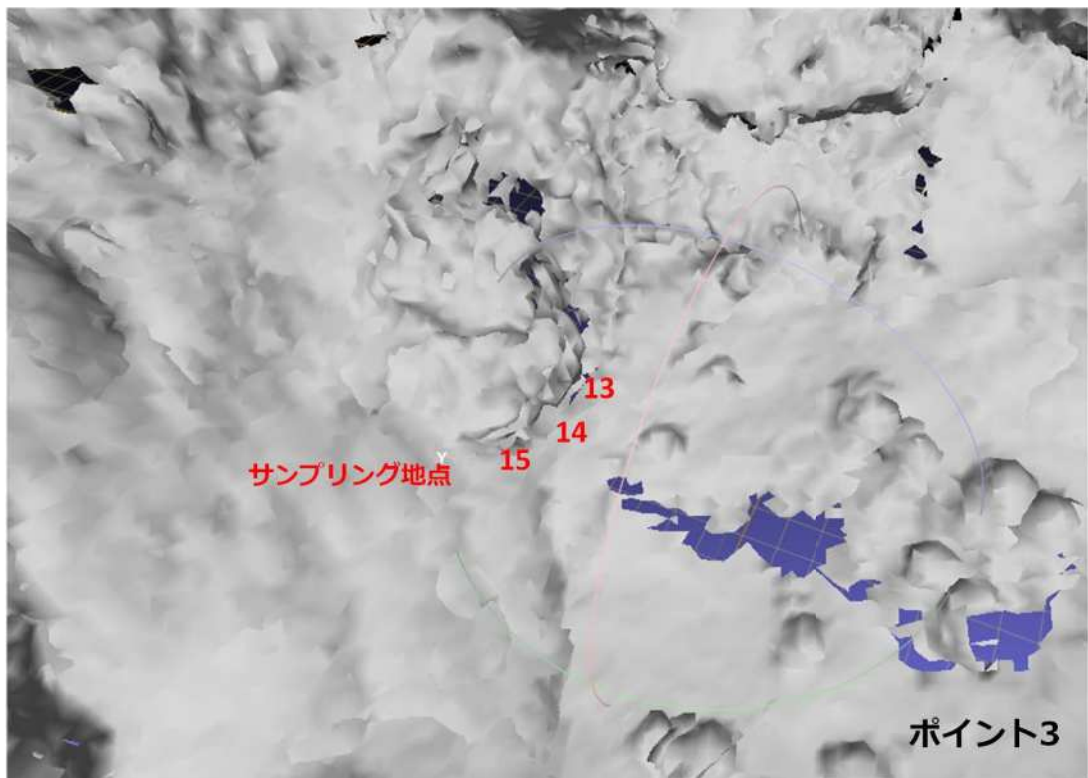
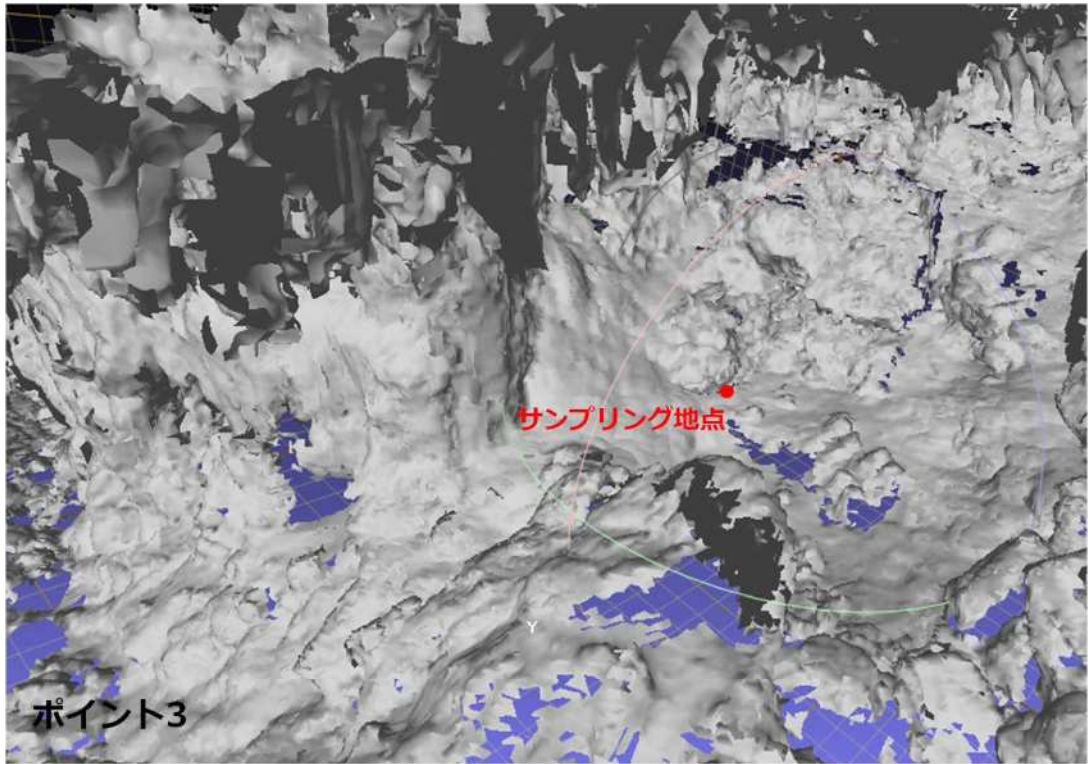


図8 (続き) サンプリングポイント3 数字はサンプル通し番号



図8（続き） サンプルングポイント3



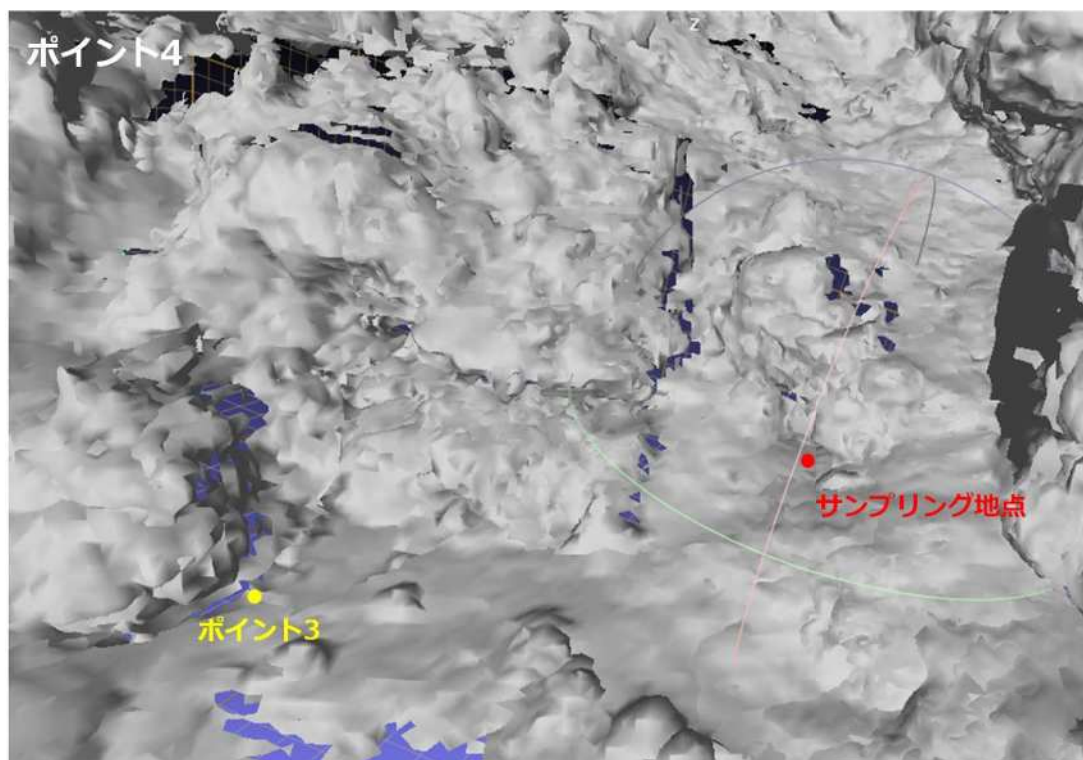
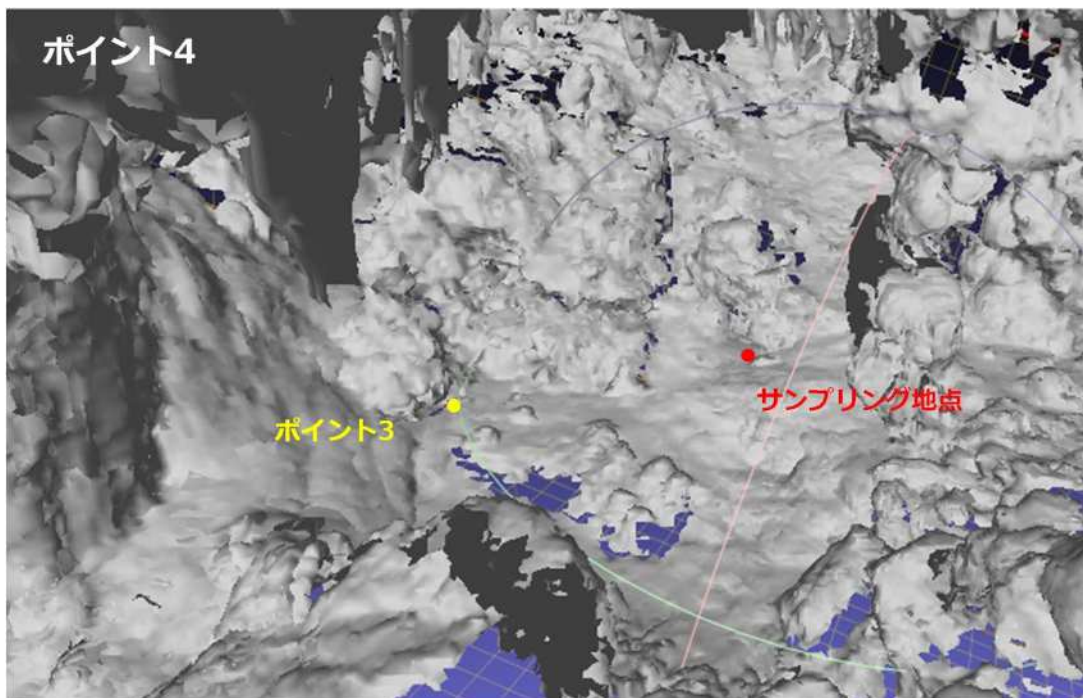


図9 サンプリングポイント4

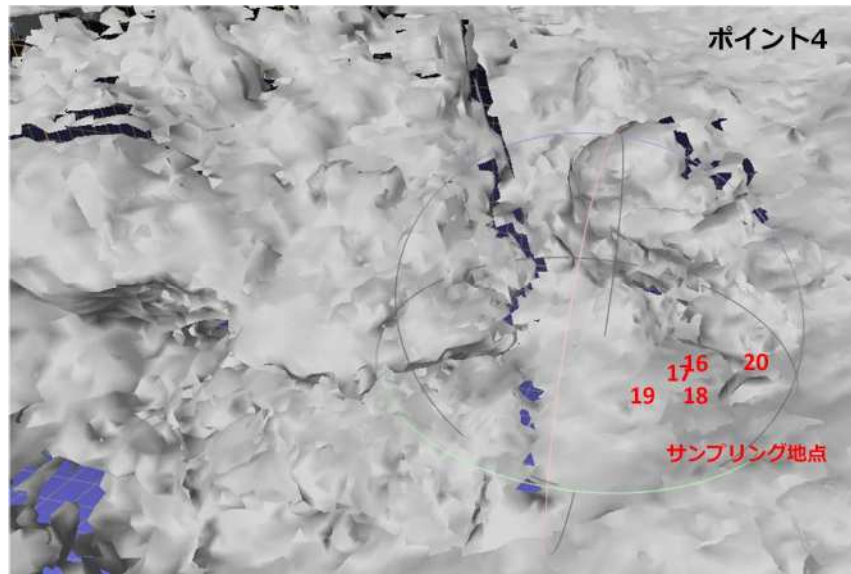


図9（続き） サンプリングポイント4 数字はサンプル通し番号

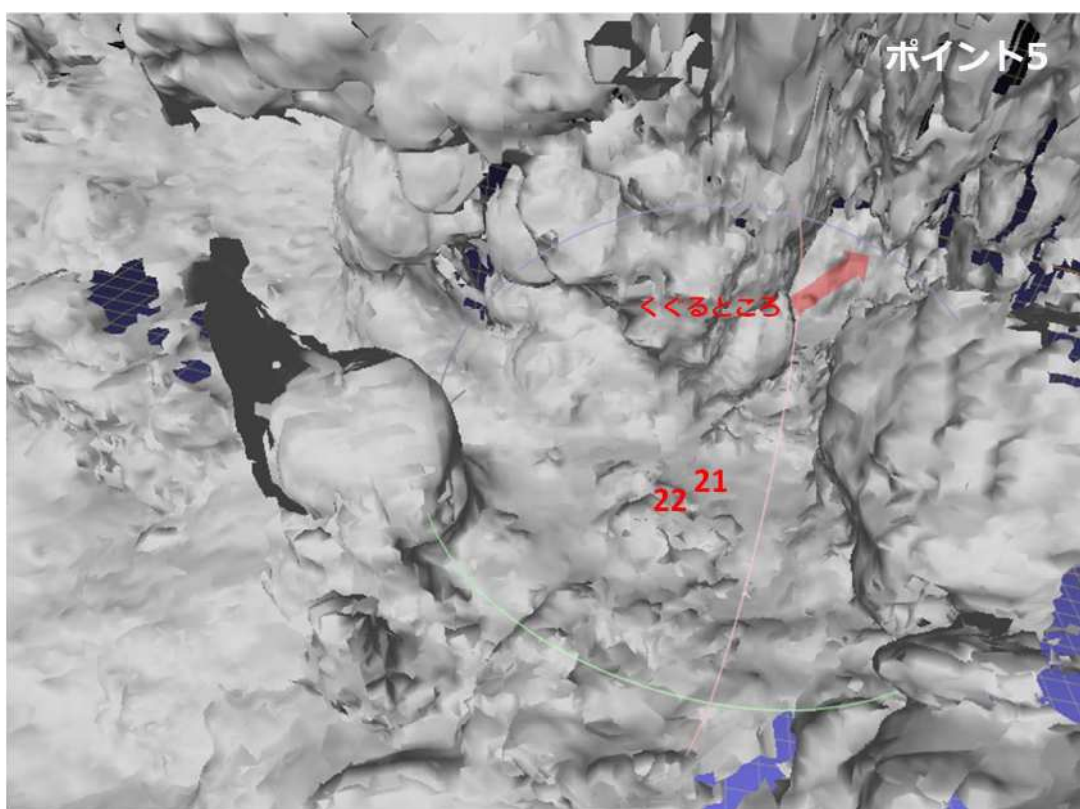
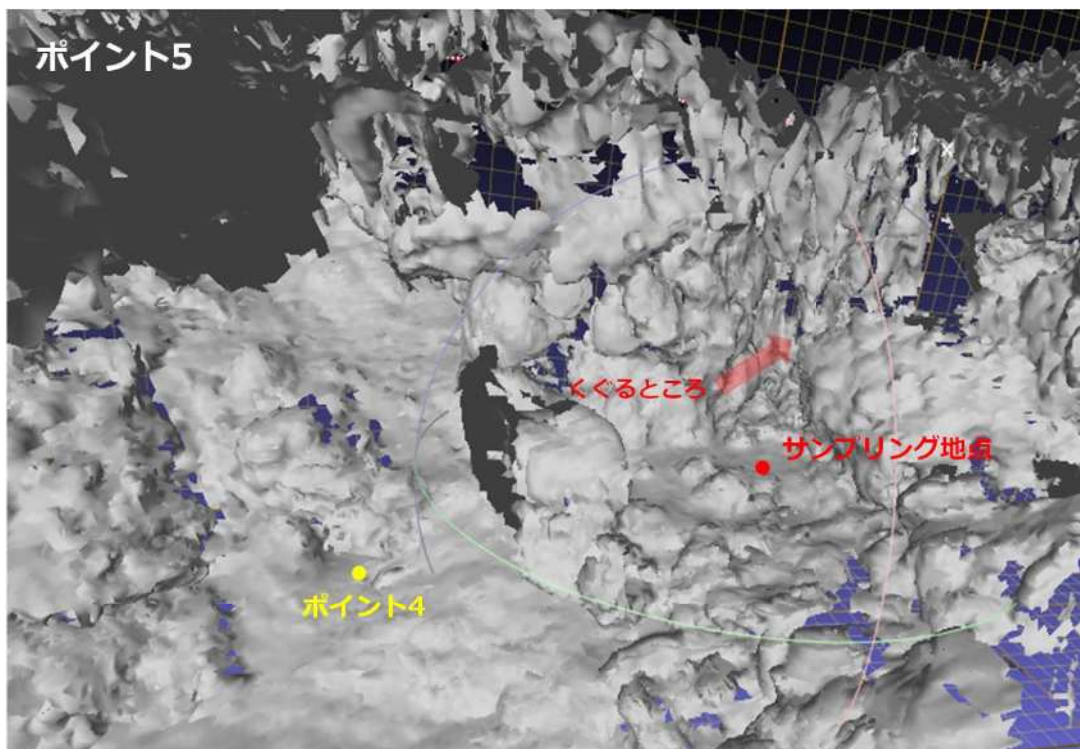


図 10 サンプリングポイント5 数字はサンプル通し番号



図 10 (続き) サンプルングポイント5

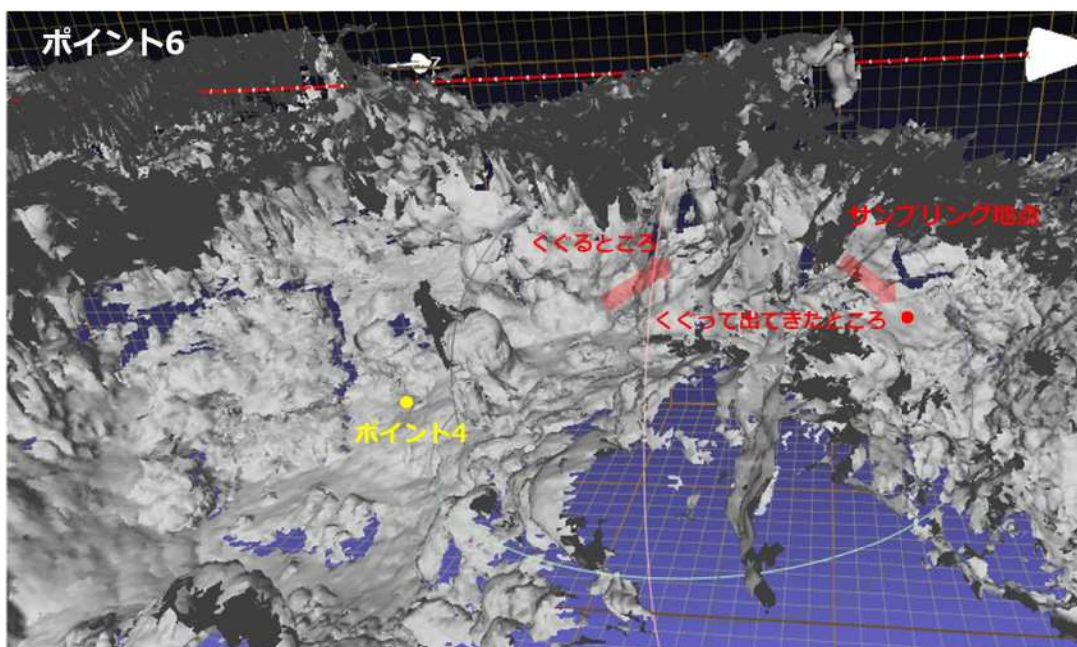


図 11 サンプルングポイント6

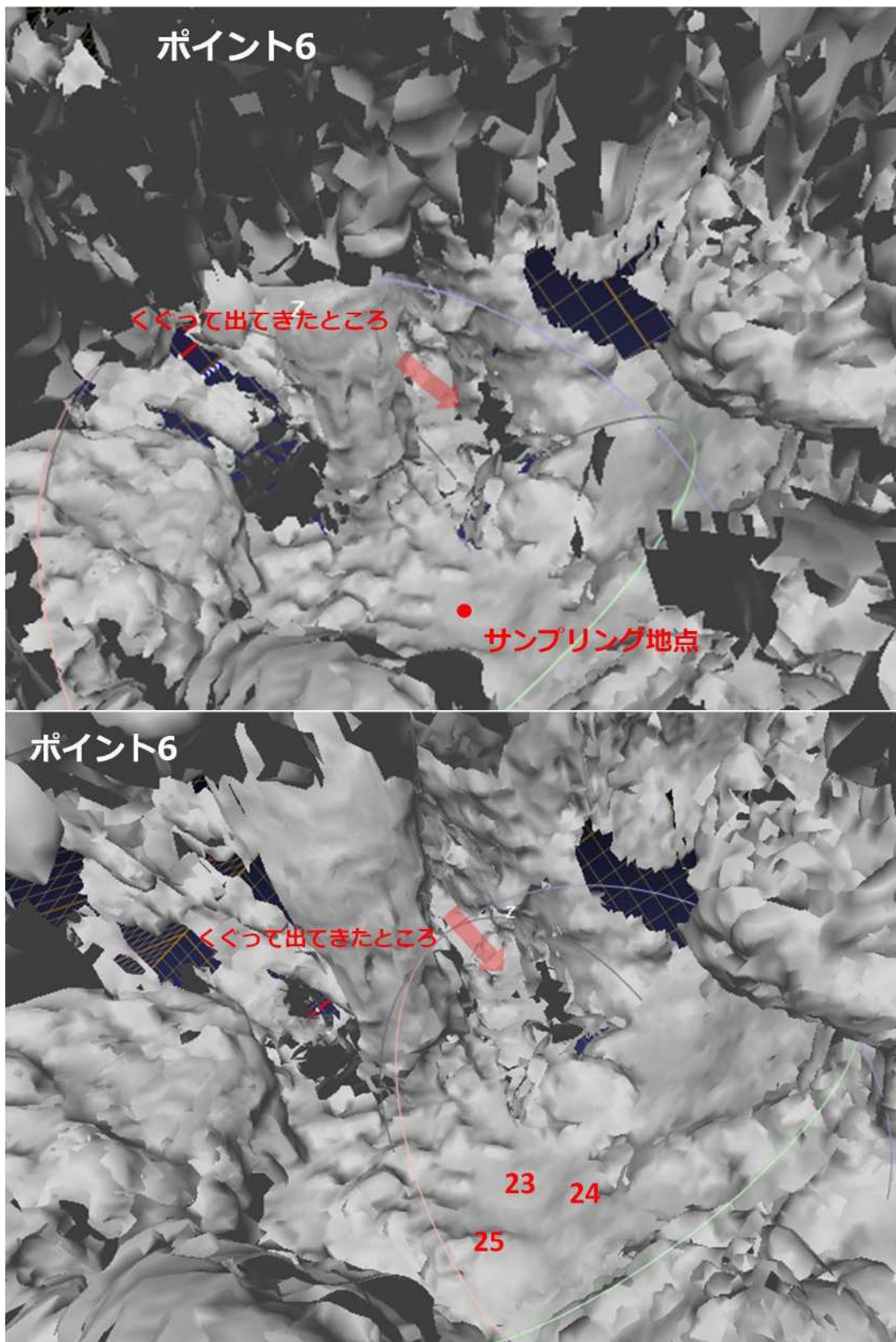


図 11 (続き) サンプリングポイント 6 数字はサンプル通し番号



図 11 (続き) サンプルングポイント 6

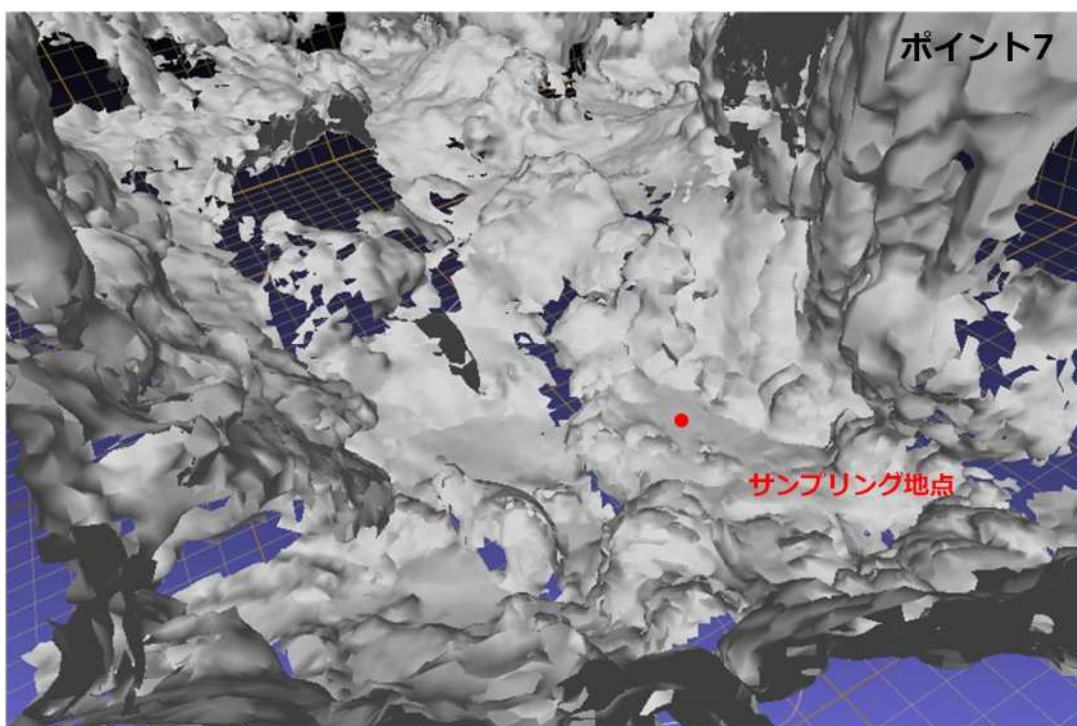
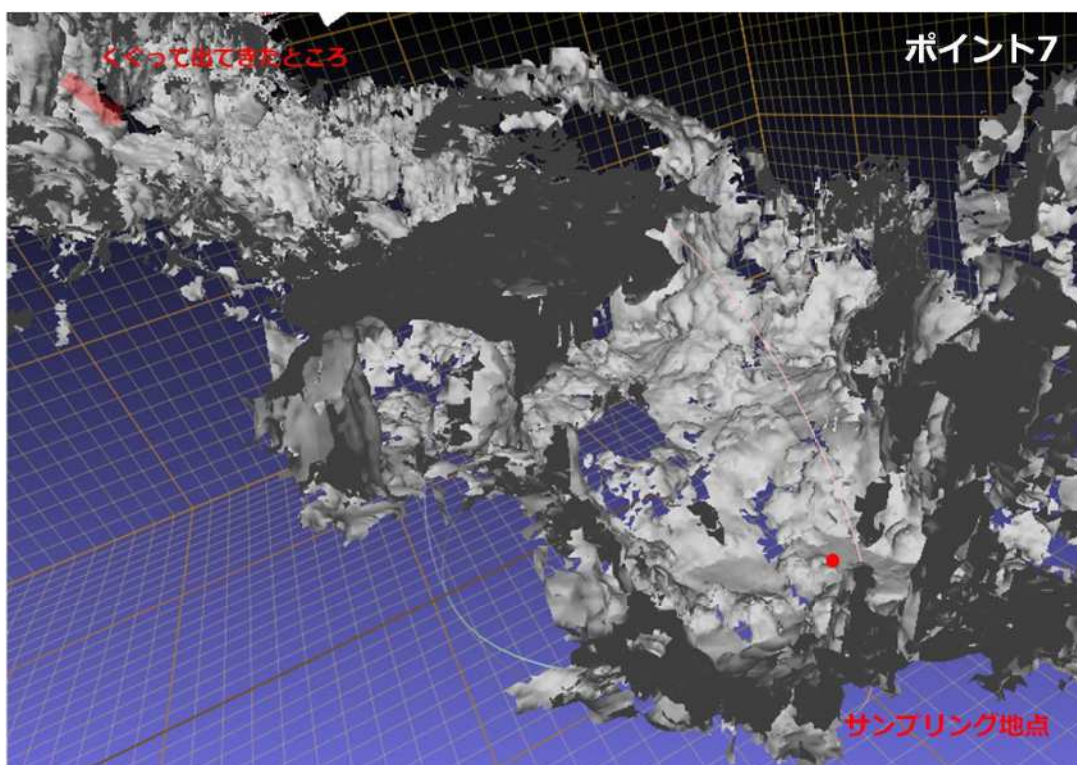


図 12 サンプリングポイント7

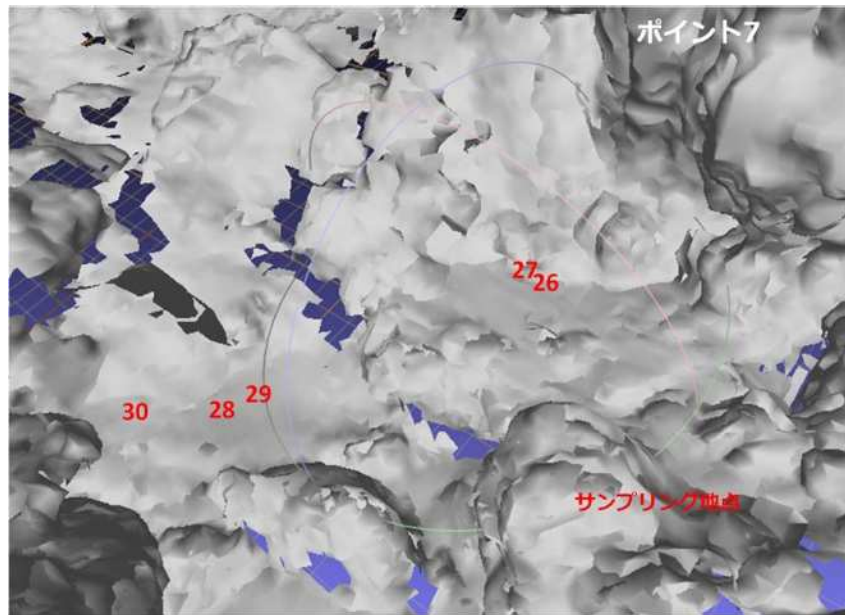


図 12 (続き) サンプリングポイント7 数字はサンプル通し番号



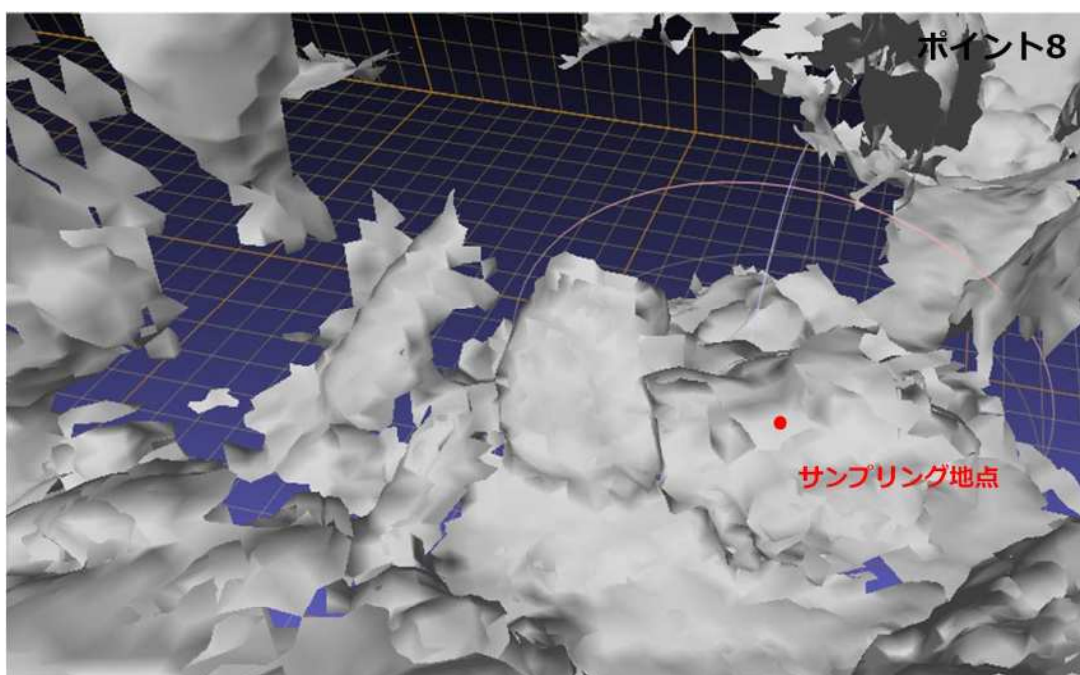
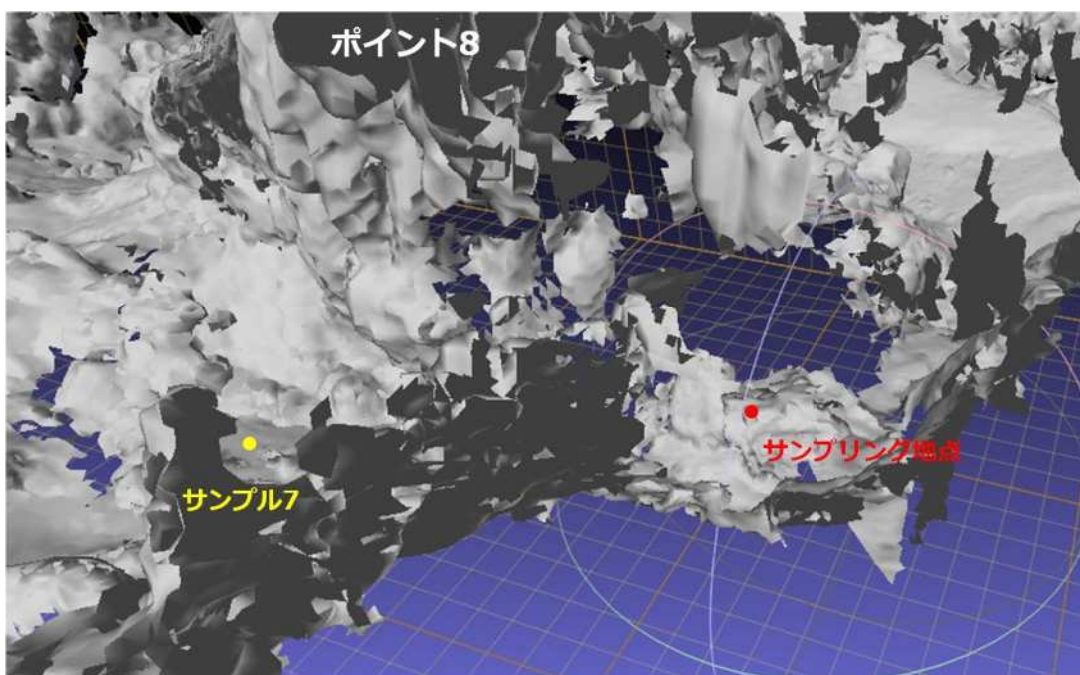


図 13 サンプリングポイント 8

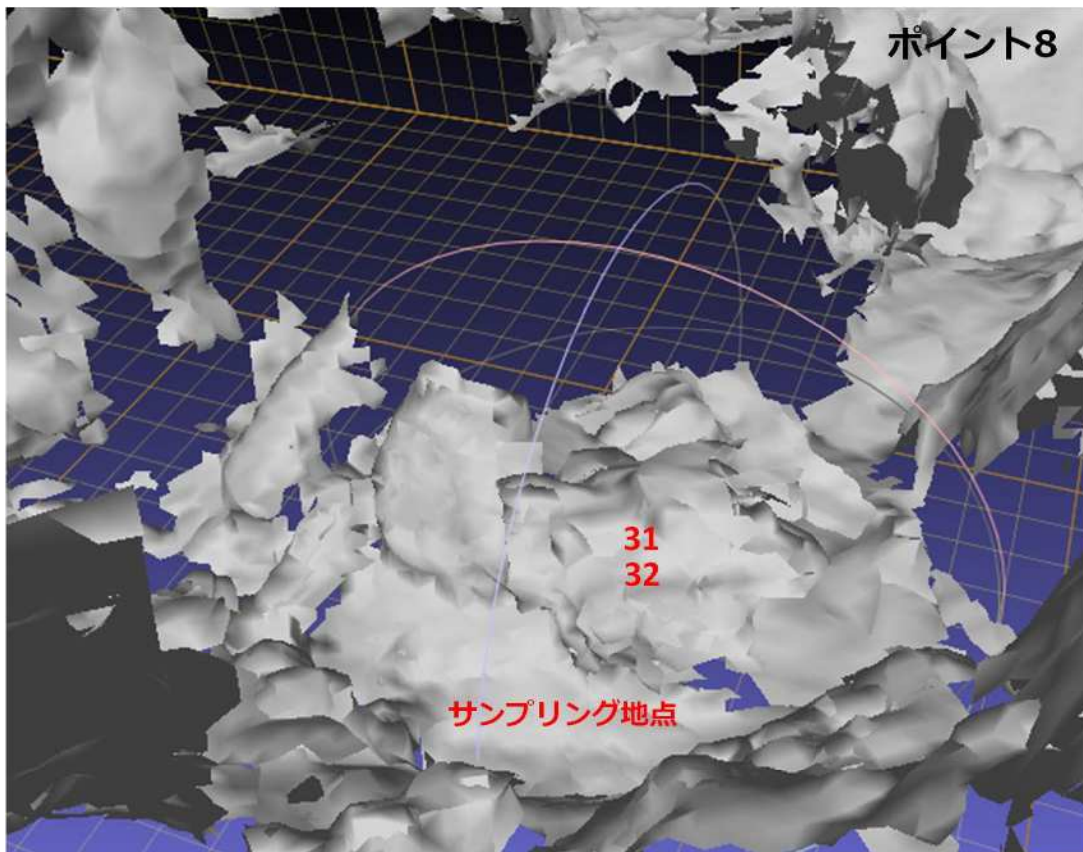


図 13 (続き) サンプリングポイント 8 数字はサンプル通し番号

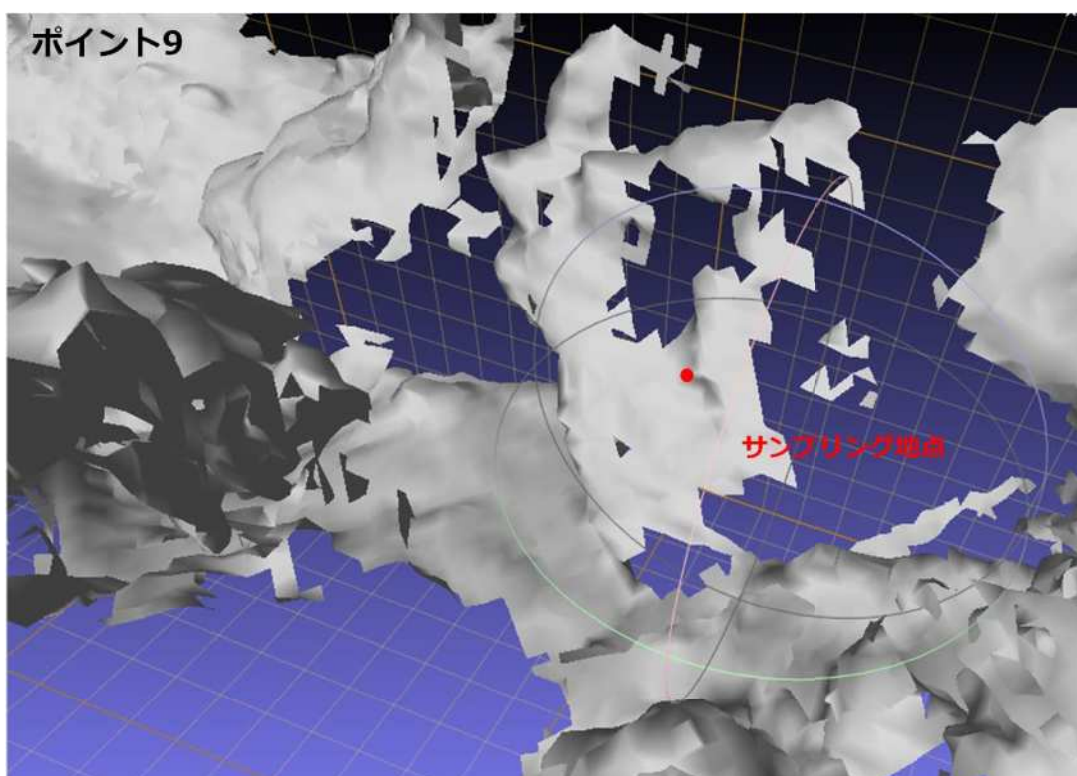
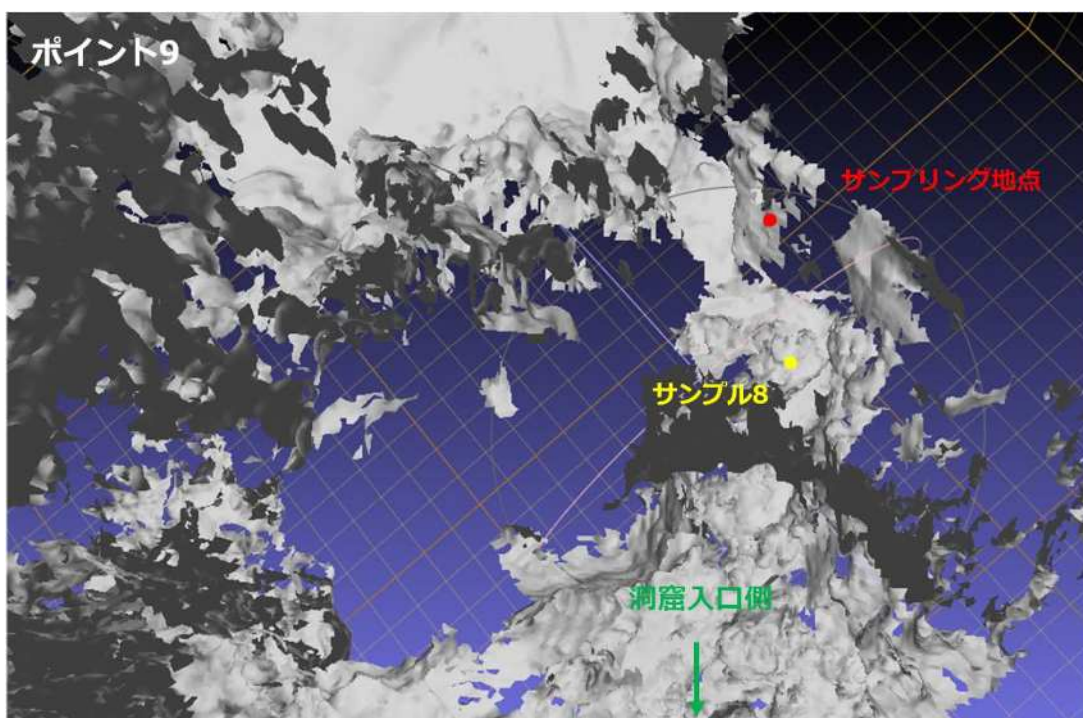


図 14 サンプリングポイント9

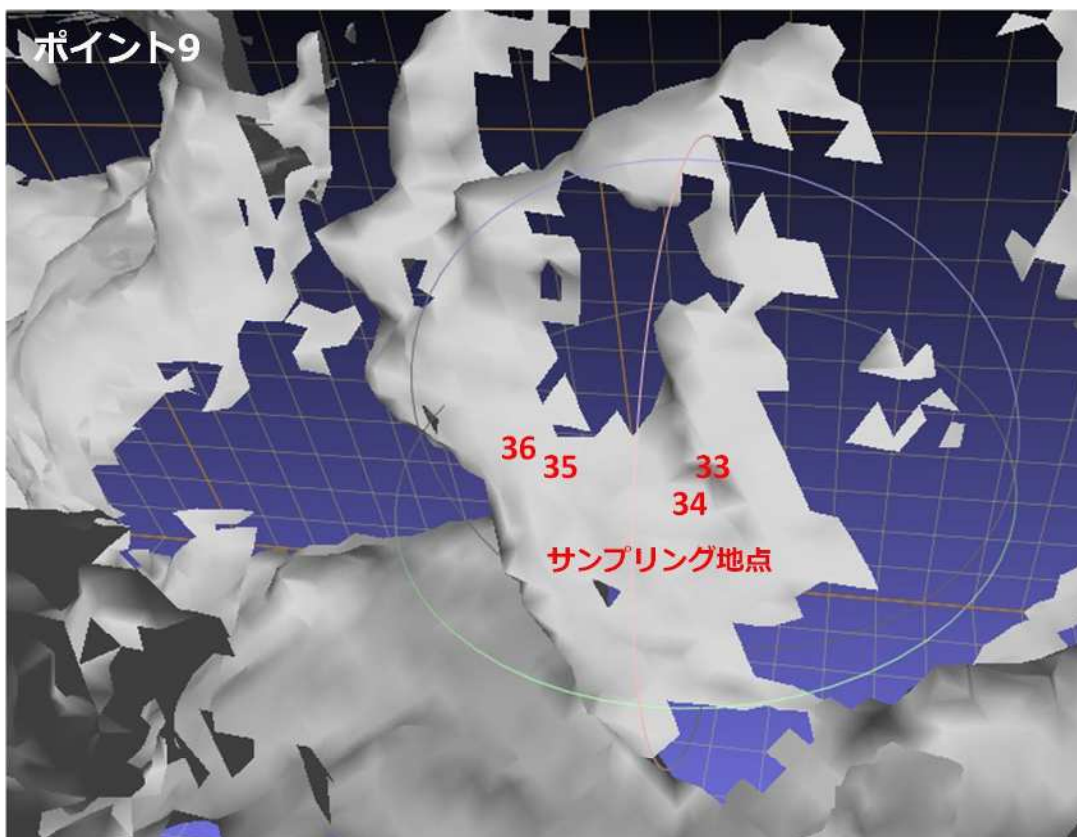


図 14 (続き) サンプリングポイント9 数字はサンプル通し番号