

理化学研究所 ニュース

Nov.—1979

No. 60

微生物とロマン

1861年、微生物学上もっとも大切な、そして画期的な実験がフランスにおいて行われた。これはパスツールがスワン首のフラスコに肉汁を入れ、微生物の発生を検討した実験であった。そしてそれまで論争のもととなっていた、微生物自然発生説をくつがえし、微生物は微生物から生まれると結論づけた。この時用いられた肉汁の pH については記載がないことからほぼ中性であったろう。この歴史的实验はそのまま現代にいたるまで教科書にうけつがれ、なんとはなしに微生物は弱酸性から微アルカリ性の pH でよく生育するという“迷信”となって約 100 年間われわれをしばって来た。

応用微生物学のいきづまり

地球が誕生して46億年、原始微生物（バクテリア）が地上に出現して35億年たっているといわれている。実に長い間種々の環境にさらされ、それに耐えて生き続け現代に至っている。この間微生物は生命を保持するため、無限に近い多くの能力を記憶として自己の遺伝子（DNA）[に刻み込んで来た。長い間に蓄積したこの記憶の無限性に加えて、地球上には多種多様の微生物が広く分布して、無限性にさらに多様性を加えている。この微生物を用いて人類は、酒、ミノ、醤油、パン、チ

ーズなどの発酵食品、グルタミン酸ソーダなどの化学調味料、ブドウ糖、果糖などの甘味料までも微生物の力で作っている。さらに人間の平均寿命を大きく伸ばした、ペニシリン、ストレプトマイシンなどの抗生物質、制ガン剤、ある種のホルモン、さらに理研で発見された農業用抗生物質ポリオキシンなども微生物によって作られたものであることはいうまでもない。しかし第二次世界大戦中より高度成長を続けた微生物利用学も、世界中の研究者が多大な労力と費用を投じた結果、だんだん新しい微生物が、そして新しい生産物が発見されにくくなって来た。これを解決するのはどのような方法がよいかが当面の大きな問題である。

いきづまりの解決法

この解決法を大きく分けると2つにわけて考えられる。一つは他の生物が持っている能力を、持っていない他の生物に移しかえる、いわゆる遺伝子工学的な考えである。この方法の特徴として、すでにわれわれが知っている能力を移しかえ能率よく多量にその物質を作らせる場合が多い。たとえば人間のインシュリンを生育の速い微生物によって短時間にしかも多量に作らせようという試みはこの例である。この場合まったくわれわれが知らないものを作らせようという試みまでは行われ

ていない。もう一つの方法は遺伝子にすでに記憶されている能力の高度利用をはかる方法である。微生物でもっとも研究されているものに大腸菌があるが、この DNA には理論上 2000~4000 の能力（酵素と考えてもよい）が刻み込まれている。ところが今迄知られた能力はわずかに 600~1000 であってあとはまったく知られていない。もっとも研究されている大腸菌ですらこの程度であるから、他の微生物では未利用の部分がどの位あるか判らない。さらに微生物の多様性を考えると充分にこれからも研究の対象となる方法である。この際にかににして長い間の進化で得た過去の記憶を思い出させるかが問題である。つまりにかににして寝ている子を起して育て上げるかである。新しい未知の生産物を主目的とする場合は後者の方がよりやり易く、効果的なことが多い。そこで私達の研究室で後者の方法で開発し、現在世界的に用いられている、好アルカリ性微生物によるアルカリ性発酵法について述べたい。この方法は今迄と違った考え方によって微生物をとりあつかうため、今日までまったく人々の目にふれなかった微生物の発見、その能力の利用、そして数多くの新しい生産物の製造を可能にした。同時に好アルカリ性

微生物ともいべき新しい学問の分野を開いたものである。

好アルカリ性微生物の発見

1969年のある日、私はイタリアのフローレンスの丘の上で、夕暮のトスカナ地方の秋を眺めていた。日本とまったく違った過去と現在の入りまじった美しいルネッサンスの世界があった。いつとはなしに微生物の検索方法（つまり寝た子を起す法）を考えていた。微生物にも私達の知らない世界があり、そこには違った文化があるに違いない。微生物の未知の世界、これを生育させる時の pH と考えてみたらどうなるか？ 酸性は食物に酸性のものが多し、古くから研究が行われている。しかしアルカリ側ではまったく行われていない。私は帰国後さっそく、pH 10.5 という今迄考えてもみなかったようなアルカリ性の培地を作り、これに一つまみの土壌を入れ 37°C で一夜培養してみた。驚いたことに 30 本ほど培養してみた試験管のすべてに微生物が元気に生育していた。新しい世界はやはりあったのだ。パスツールが明らかにした中性の世界とまったく違った世界が顕微鏡の下にその姿を明らかにしたのである。さっそくわれわれはこれらの微生物について研究を開始した。未知の世界がひとたび開かれると、あたかもパンドラの箱が開かれたごとく、次から次へと新しい微生物が見つかった。そしてそれらの持っている能力が引き出され、今迄考えられなかったような情報、すなわち生理的な面、生産物の面での新しい事実が明らかにされて来た。そこで私たちは好アルカリ性微生物を用いた発酵法を“アルカリ性発酵法”と名づけて学会に報告した。この方法は新しい発酵法として注目され、数多くの内外の研究者によって多くの報告、特許が出されている。

好アルカリ性微生物の分離と分布

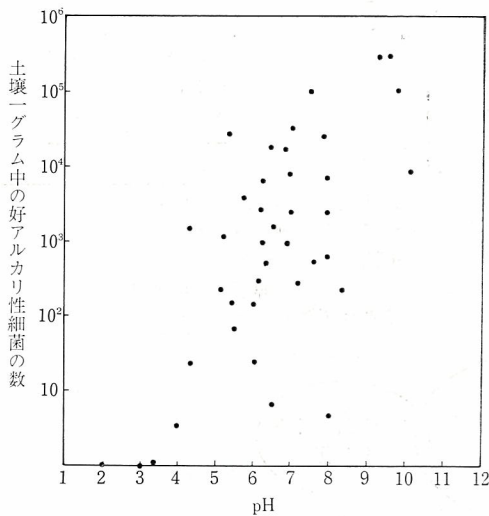
好アルカリ性微生物を分離するためには、アルカリ性の培地を作らねばならない。通常の培地に 1% 炭酸ソーダを加えるのが特徴である。これで pH が 10.2~10.5 になる。微生物の分離源としては土壌がもっともよい。好アルカリ性微生物は北



好アルカリ性細菌の写真

好アルカリ性微生物用のアルカリ性培地

	I - 培地 (グラム／リットル)	II - 培地 (グラム／リットル)
グルコース	10	
可溶性デンプン		10
ポリペプトン	5	5
イーストエキス	5	5
K ₂ HPO ₄	1	1
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.2	0.2
Na ₂ CO ₃	10	10
寒天	20	20



好アルカリ性細菌の数と土壌pHとの関係 あるpHの土壌1グラムを取り、蒸留水に分離させたとき、その土壌に含まれている好アルカリ性細菌の数を測定したものである。pH. が高いほど、多く分布しているようにみえる。

半球の土壌について調べたかぎりではどこにでも普通に分布しているといってもよい。土壌のpHと見出されたバクテリアの数を調べると全体的にはアルカリ性土壌中に多く見出される傾向はある。なお見出される数は通常の微生物の場合の $1/10 \sim 1/100$ である。種類も非常に多く、バクテリアのほか放線菌、カビ、酵母がみつかり、中性で見出されている微生物に近い種類の細菌が分布している可能性がある。

中性菌との違い

好アルカリ性菌の特徴はpH 10前後で非常によ

く生育するが、普通の微生物(中性菌)が生育するpHでは生育しないことである。なお中性菌はpH 8.5以上ではほとんど生育しなくなる。外部のpHはアルカリ性でなければならないのに、細胞内のpHは7~8である。細胞の内と外とでpHが大きく違っている。この不連続は細胞表面で作られている。細胞表面は細胞壁と、細胞膜とにわかれる。中性菌との差は細胞膜にあるらしい。外部のpHと物質の菌体中への取りこみについては非常に興味ある結果が得られている。一般的にみてpH 10付近でのとりこみがpH 7よりも多い。そして単にpHのみに支配されているのではなく、ナトリウムイオンを絶対的に必要とする。これは好アルカリ性菌の起源を知るのに有力な手がかりとなる。一方タンパク合成系や、その他の菌体内酵素を調べたかぎりでは、中性菌のそれと違いがない。つまり内部は中性菌とあまり変わらないことになる。したがって内と外との大きなpHの差が何故必要なかが問題である。好アルカリ性バチルスにはフェージがある。このフェージも非常に変わっていて、中性ではきわめて不安定でpH 10~12で安定な好アルカリ性フェージである。

アルカリ性発酵法による酵素生産

生産物についてはまだ酵素の面からのみ研究が行われているとって過言でない。抗生物質などの生理活性物質についての研究もされているが、まだ詳細な報告はない。アルカリ側で生育させるため、作られた酵素については作用pHがアルカリ側にあるとか、0.1N カセイソーダの中で安定であるとか、今まで菌体中にだけ見出されていた酵素が多量に菌体外に作られるなど興味ある結果が得られている。アルカリプロテアーゼとはアルカリ側でタンパク質をよく分解する酵素で、*Bacillus* No. 221の酵素は、今迄のどれよりも作用pHがアルカリ側にあり、0.1Nのカセイソーダ中で十分に安定である。アルカリアミラーゼはアルカリ性発酵法によって1971年に私たちによって世界で初めて見出されたものであって、いまだにアルカリ性発酵法によらねば生産されないものである。そのうちの一つの *Bacillus* No. 38-2の

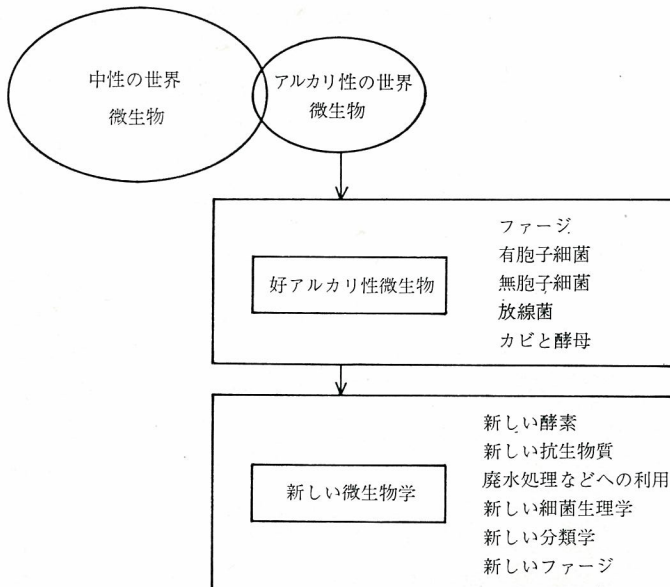
		最適pH	安定pH	分子量	等電点
アルカリプロテアーゼ	No.221	12~11.5	4~11	3×10 ⁴	10.8
	No.8-1	11~10.5	6~9	3×10 ⁴	—
アルカリアマラーゼ	No.A-40-2	10.5	7~9	7×10 ⁴	—
	No.17-1	4.5, 10	6~10	5~6×10 ⁴	4.5
	No.38-2	4.5, 9	5~10.5	4.5×10 ⁴	5.3
アルカリプルラーゼ	No.202-1	9.0	6~10	9.2×10 ⁴	< 2.5
アルカリペクチナーゼ	No.P-4-N	10	5~9	6~7×10 ⁴	—
アルカリリパーゼ		10	—	—	—
アルカリセルラーゼ	No.N-4	6.5, 11	5~11	4.8×10 ⁴	< 3
	No.212	6~8	5~10	7×10 ⁴	4.3
アルカリアルギナーゼ	No.M-2	9.0	8~10	4×10 ⁴	5.5
アルカリカタラーゼ	No.Ku-1	10	7~9	12.5 S	< 3
アルカリDNアーゼ	No.M-29	9.0	6~10	4×10 ⁴	~4
アルカリRNアーゼ	No.243	9.0	6~10	1.2×10 ⁴	—
β-1, 3-グルカナーゼ	No.K-12-5	5.5~8	6~8	4×10 ⁴	3.5
	No.221	8.5	5~9	3.6×10 ⁴	4.1
キシラーゼ	No.C-59-2	5.5~9	5~9	3.5 S	6.3
α-ガラクトシダーゼ	No.31-2	7.5	7.5~8	—	—
ペニシリナーゼ	No.170	6~7	7~10	3×10 ⁴	—

好アルカリ性微生物が生産する酵素 土壌から分離された好アルカリ性微生物は、いろいろな酵素をつくり出す。酵素がもっとも働きやすい pH、つまり作用最適 pH がアルカリ側にあるもの、またアマラーゼ、セルラーゼのように作用最適 pH は中性付近だけれども pH 10 で安定に存在し、十分作用する酵素もある。一方、カタラーゼのように、菌体内につくられると考えられていた酵素が、菌体外に多量につくられる場合もある。アルカリアマラーゼ No.38-2 は、β-サイクロデキストリンをつくる。

アマラーゼはデンプンから75%以上の驚異的な変換率でサイクロデキストリンを作る新しい酵素であった。この酵素を用いて世界で始めてサイクロデキストリンの工業スケールでの生産に成功した。詳細については理研ニュース No. 39を参照されたい。このほかにも多くの酵素が見出されているが、カタラーゼ、DNA 分解酵素のように通常菌体内にある酵素が菌体外にしかも多量に作られるなど、酵素工業上の利点も大きい。

これからの問題

アルカリ性の世界の研究を始めて、やっと10年。そこには中性の世界では見られない新しい多くの微生物群が生育し、今迄知られないうちの生産物を作っていた。私たちが現在の微生物学のレベルに到達するのに100年近くかかっている。われわれのアルカリ性の世界の微生物学も同じレベルに達す



好アルカリ性細菌の利用法 これまでの微生物群の世界を“中性の世界”とすると、“アルカリ性の世界”ともいべき世界があることが明らかになった。“アルカリ性の世界”の微生物について、本格的な研究が始まって、まだ10年にもならない。しかし、そこには中性の世界とは違った、新しい微生物群が生育して、今まで知られていなかった生産物をつくり出しているのである。その一例が酵素であり、サイクロデキストリン生成酵素のように工業化されるまでになったものもある。しかし、この新しい微生物学ともいべき分野は、まだまだ未開拓の部分が多く、これからの研究課題も豊富である。

るのには、まだまだ長い年月を必要とすることであろう。今私たちの研究室は新しい世界におずおずと一歩一歩入りこみ、アルカリ性の世界で何が起きているか一枚一枚そのペールをはがしている。そしてその世界の奥深さに驚き、山積みしている宝をどのようにして取り出して行ったらよい

かに迷っている。あるいは一生アルカリ性の世界に迷いつづけているかもしれない。しかしそれでもよいのではなからうか、一人の微生物学者のロマンとして。

微生物生態学研究室
主任研究員 掘越弘毅

開発テーマ

モアレ法による立体形状の自動計測

はじめに

まず写真1をご覧ください。これは最近新聞などでもとりあげられている脊柱側弯症児童の背面形状を示す等高モアレ写真である。縞模様の形、左右の対称性などから側弯症か否かの判定

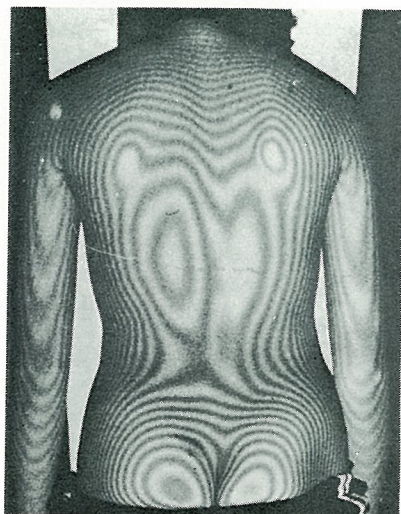


写真1 モアレトポグラフィによる等高線画像
(千葉大学医学部篠遠彰氏の提供による)

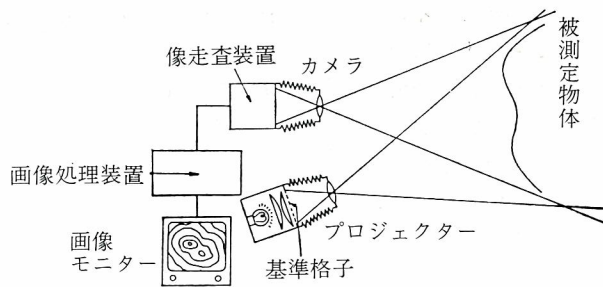
を行うために利用されている。

この写真は、モアレトポグラフィと呼ばれる方法で撮影されたものである。このモアレトポグラフィ法は非接触で被測定物体の等高線画像が得られるため、接触できない対象物あるいは接触すると破壊あるいは変形してしまう物体の形状測定には都合の良い方法である。

モアレとは二個以上の規則的な模様を重ねたときに、もとの模様とは全く異なった縞模様が見られる現象である。遠方からゴルフのネットを見たときにみえるネットとは別の縞模様、細かな柄のシャツを着たタレントがテレビに映ったときに現われるめざわりな縞模様、これらは全てモアレである。このように、われわれの身のまわりにもモアレの現象と考えられるものが沢山ある。

では、このモアレによって物体の等高線画像がどのようにして得られるのであろうか。投影型モアレトポグラフィ法によれば、まず、被測定物体の上に直線状の格子の像を投影する。物体の上には、その形状に従って変形した格子の影（変形格子像）が現われるので、この変形格子像をレンズで別の直線格子の上に結像しこれらを重ね合わせて物体の等高線に対応するモアレ縞を発生させる。

工学の分野でこのモアレトポグラフィが注目さ



第1図 走査モアレ法による立体形状測定装置

れたのは当然であるが、それとは全く異なった分野、すなわち、医学、被服学、体育学、人類学などの分野においてもこのモアレトポグラフィは広く利用されている。

モアレ縞を利用した計測法においては、測定すべき情報が、このように縞画像として得られるため定性的な測定には大変便利であるが、一方定量的な計測値を得るにはこのモアレ縞画像を解析処理する必要がある。しかし、この解析は非常に厄介であり、人間の手作業によると莫大な時間と労力を要する。ごく最近になって電子計算機による画像処理技術を利用したモアレ縞の解析が試みられ、立体形状の自動測定への道が開けてきた。

新たな発展——走査モアレ法——

理化学研究所においても、モアレ縞画像の解析処理の研究が進められている。走査モアレ法と呼ばれる方法が考案され、計測の自動化を妨げていた最大の関門、凹凸判定の問題が解決された。この成果は、光学計測研究室と情報科学研究室の協同研究による。伝統的な光学技術であるモアレ法に電子的な情報処理技術が加味され、大きな成果をあげることができた。

ここで問題となった凹凸判定の問題とは、写真1のようなモアレ縞そのものだけでは被測定物体が凸なのか凹なのか区別がつかないということである。モアレ縞に限らず等高線そのものにはいつもこの不確定性がある。地図では等高線の中に高さを記入したり色分けしたりして凹凸の情報を示している。したがって人間にとっては自明の凹

凸情報であっても、機械に処理を行わせる場合には、何らかの方法でこの不確定性を除くことが必要である。

さて、テレビに映った縞模様のシャツにモアレ縞が現われることは前に述べたが、このモアレ縞を注意して見るとシャツを着たタレントが動かなくてもモアレ縞が動くことに気づくであろう。これはテレビの走査線のゆらぎに起因する。この走査線のゆらぎを積極的に利用して上記凹凸問題を解決し、モアレ縞の自動解析を行う方法が、走査モアレ法である。第1図に走査モアレ法による立体形状測定装置の概念図を示す。投影光学系によって基準直線格子を被測定物体上に投影し、物体の形状にしたがって変形をうけた格子像をカメラ

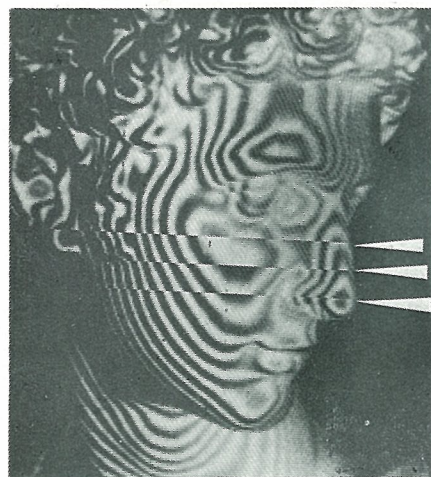


写真2 走査モアレ法による等高線画像
白矢印の部分で走査線の位相が変化されている。

で観測する。この変形格子像を第二の基準格子を通して観測し、物体の等高線画像を得るのが従来の投影型モアレトポグラフィであり、この図のように第二の基準格子の代わりに電子的走査手段を用い変形格子像を仮想的な格子線（仮想格子線）に沿って、等高線画像を得るのが走査モアレ法である。

写真2に、走査モアレ法によって得られた等高

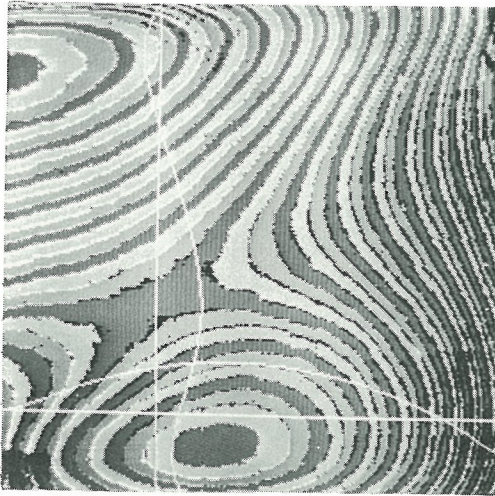


写真3 カラー等高線画像と断面形状の表示。白黒印刷のため色は明暗の違いで区別できる。（赤，緑，青の順に明るくなっている。）



写真4 簡易型立体形状測定装置

線画像を示す。写真中の白矢印の所で仮想格子線の位相（格子線に直角方向への位置）を変化させた。その結果モアレ縞がその部分で移動し、その移動方向から測定物体の凹凸が判定できる。また、この技法を発展させると、仮想格子線の位置をわずかに変えて得られる何枚かの等高線画像を、色を変えて表示することにより、色の順序によって凹凸の情報も含めたモアレ等高線の表示ができる。写真3にカラー表示したモアレ等高線画像の例を示す。印刷の関係で白黒写真であるが、色の情報は縞の明暗によって判別できる。写真の中の白線は、前に述べた凹凸判定法を利用して求めた断面形状を示している。これらの実験においては、いずれも走査手段として情報科学研究室で開発された高精度ブラウン管を用いた写真読取記録装置が使用され、画像処理装置としてはミニコンピュータが使用された。

簡易型立体形状測定装置

このように走査モアレ法は、立体形状測定において非常に有力な手段を提供することがわかった。これらの実験結果をふまえて、実用化をめざした小型で移動可能な専用システムを試作中である。このシステムにおいては、入力眼に固体イメージセンサ（多数の微小な光電素子が線状に配列されたもの）を用いて位置精度の高い画像入力を実現する一方、低価格、コンパクト化のためにマイクロコンピュータを使用しているのが特徴である（写真4）。

おわりに

モアレ法によって立体形状の測定ができることが示されて10年になろうとしている。この間、機械部品、車体プレス、人体や衣服の形状検査といった広い分野でモアレトポグラフィの実用化が進められた。以上述べてきたように、モアレ法による立体形状計測の自動化にもめどが付き、他の分野への応用が期待されている。

光学計測研究室
情報科学研究室



アンデスの小旅行

ボリビアという国は、日本から見て丁度地球の裏側にある。人口約500万人、面積は日本の約3倍、国土の $\frac{1}{3}$ は高度3000m前後のアンデス山脈中にあり、そこに人口の約 $\frac{2}{3}$ が住んでいる。首都は政府所在地のラパスで、海拔3600mの高さにある。

ラパスの中心部から車で1時間半のところにチャカルタヤ山(海拔5393m)があり、その5200m地点に日本・ボリビア共同の宇宙線観測所がある。理研から既に4名が主任技術者として観測に従事し、観測装置の電子回路の大半を設計製作して来た。

私がラパスに着いたのは3月末、雨期が終ろうとしている頃である。4月の第1周はセマナ・サンタ(聖週間)で、その金曜日は休みだから日曜まで3日間のバス旅行に参加しないかと、同僚の山田君から声がかかった。行先はラパスから北西約140kmのソラタである。

ソラタは、ボリビアで2番目に高いイヤンプ山



ラパス遠景

(6568m)の麓にあり、イヤンプ山の登山基地でもある。バス旅行といっても、日本のデラックスな観光バスとはくらべものにならない。普段市内を走っているマイクロバスである。ラパスを出たバスは、アンデス山中海拔4000mの高原(アルチプレーノ)を土埃りを巻上げて走る。路端に人が居ようがおかまいなし、また、人も平気なものである。右の車窓はるかに、白雪をいただいた高山が連って見える。いずれも、山気違いなら一度は登りたい山々である。途中4600mの峠を越えて、下りにはいると、ソラタの村がはるか下方の谷間に見えて来る。今までの褐色の草原から景色は一変し、緑の斜面が続きその中に緑の樹々が点在している。日本の山で見なれた風景である。

翌日、洞窟を見に行くというので皆について行くことにした。洞窟までは7km位という。背広を着、短ぐつをはき、肩にカメラ一式をいれたバックをさげて、日本国内の観光気分である。アマゾンの源流の一つである溪谷に沿って山道を歩く、白く濁って、とうとうと流れる川は次第に、はるか眼下になる。あの水はこれから6000km流れて大西洋に注ぐのかと思うと、雄大な自然にのみ込まれるような感じである。しかし3時間歩いても目的地に着かない。ここへきて、日本とボリビアの観光の違いに気がついたが遅い。4時間かかって洞窟に到着、観光気分は完全に消失した。結局7km(?)を往復するのに9時間かかって、夕方ホテルにやっと帰り着いた。周りを見ると、ボリビア人は皆陽気であり、くったくがなく、のんびりしている。アンデスの雄大さによるのだろうか。

工作部 電子測器課
課長 後藤 栄一郎