

他のバクテリアに依存して楽をする バクテリアの発見

片山 泰樹¹

※本稿は 2024 年 6 月 3 日に、産業技術総合研究所、海洋研究開発機構、日本電子株式会社が共同で行ったプレス発表 (https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2024/pr20240603_2/pr20240603_2.html) に加筆し、再編したものです。

1. はじめに

微生物とは色々な分類群の生物を総称した言葉ですが、本稿では微生物を細菌と古細菌に限定して用いることとします。

微生物は肉眼では捉えることができませんが、私たちの身の回りにたくさん存在しています。腸内には約 100 兆個もの微生物が生息し、ヒトの健康に密接に関わっています。善玉菌として乳酸菌、悪玉菌として大腸菌はよく知られた微生物種です。しかし、全体で見ると、ヒトに良い影響または悪い影響を与えることが明らかになっている微生物の種類は非常に限られています。大多数はヒトに対して良いのか悪いのかわからない、つまり、性質が不明な未知微生物です。この事実は、腸内だけでなく地球のありとあらゆる環境に当てはまります。

ある種の微生物の性質を知るためには、その菌種のみを人工的に培養し増殖させる必要があります(これを純粋培養と言います)。しかし、環境中に生息する微生物の大多数は未だ純粋培養ができていません。培養を介さずに環境から微生物の遺伝子を直接解析すると、既知の微生物種の遺伝子配列とは異なる、つまり、未知の微生物種が非常に多様に存在していることがわかります。微生物を一番大まかにグループ分けすると、上記の遺伝子だけの存在を含め、約 200 グループ存在します (GTDB database 09-RS220: <https://gtdb.ecogenomic.org/>)。分類学上、このグループ分けの単位を「門」と言います。このうち、研究者によって純粋培養された菌株が存在する門は全体の 3 割にも満たないのです。当然、培養株が存在する門の中にも培養できていない種は存在します。

腸内細菌の働きがヒトの健康に不可欠のように、どの環境においても微生物は欠かすことのできない存在です。未培養の微生物を培養し性質を知ることができれば、地球の営みを支える環境微生物の活動の理解につながり、ひいては、地球環境の保全や地球資源の安全で効率的な利用に貢

献できます。また、培養によって獲得できた微生物そのものをバイオテクノロジー分野などに応用する可能性も広がります。

2. 研究の経緯

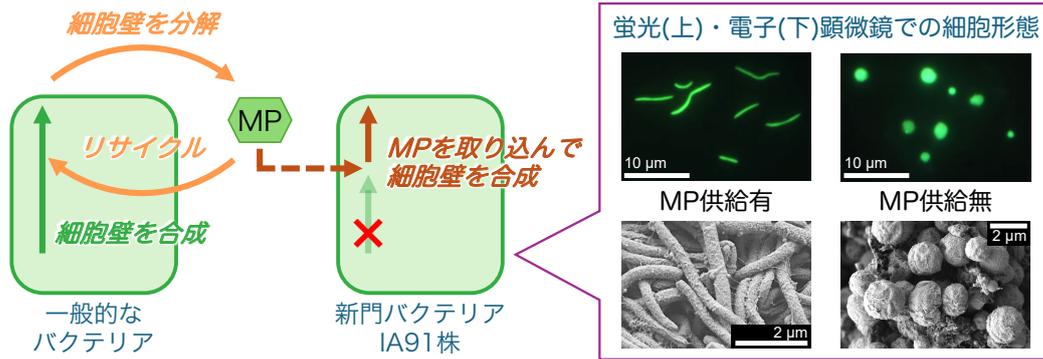
地圏資源環境研究部門地圏微生物研究グループは、生物プロセス研究部門生物資源情報基盤研究グループや海洋研究開発機構と連携して、天然ガス田や油田などの地下環境を対象に、そこに生息する微生物活動の解明を目指しています。千葉県を中心に分布する南関東ガス田には、地下の微生物の活動によって生成されたメタンが大量に賦存しており (Katayama *et al.*, 2015)、天然ガスとして生活を支えています。天然ガスの効率的な利用の面から重要な研究対象地ですが、いつ、どこで、どのようにして、どれくらい生成されたのか、多くの部分が未解明です。この研究の問題点の一つは、前述の通り、地下の微生物の多くが培養できておらず性質が不明なことです。地表の環境に比べ、地下環境は微生物活動に必要なエネルギー源が極度に不足します。そのような極限環境では、微生物同士の相互作用が鍵になると考え、天然ガス田の堆積物と地層水を採取・利用し、未知の地下バクテリアの培養に取り組みました。

3. 研究の内容

微生物同士の相互作用を活用した戦略的な培養手法により、国内の天然ガス田に由来する地下堆積物と地層水から新門バクテリア IA91 株の培養に成功しました。IA91 株の完全なゲノム配列の解析により、このバクテリアが Marine Group A (別名, SAR406, Ca. Marinimicrobia) と呼ばれる未培養の門に属することが判明しました。産総研が新たな門を代表する基準株となるバクテリアを世界で初めて培養するのはこれで 4 例目となります (Zhang *et al.*, 2003; Tamaki *et al.*, 2011; Katayama *et al.*, 2020, 2024)。

¹ 産総研 地質調査総合センター地圏資源環境研究部門

キーワード: 微生物, 相互作用, 細胞壁



第1図 新たに発見したバクテリア IA91 株の省エネ戦略. 一般的にバクテリアは細胞の形状を維持する細胞壁を有する. 増殖するためにエネルギーを消費して細胞壁を新たに合成するとともに, 細胞壁の一部を分解してムロペプチド (MP) として再利用している. IA91 株は, 他のバクテリアがリサイクルする MP を取り込んで自分自身の細胞壁の合成に利用する. 細胞壁合成にかかるエネルギーの消費を大幅に削減できるが, その供給がなければ細胞壁を合成できず, 桿状の細胞の形 (顕微鏡写真左) が崩れて球状となり (右), 死に至る.

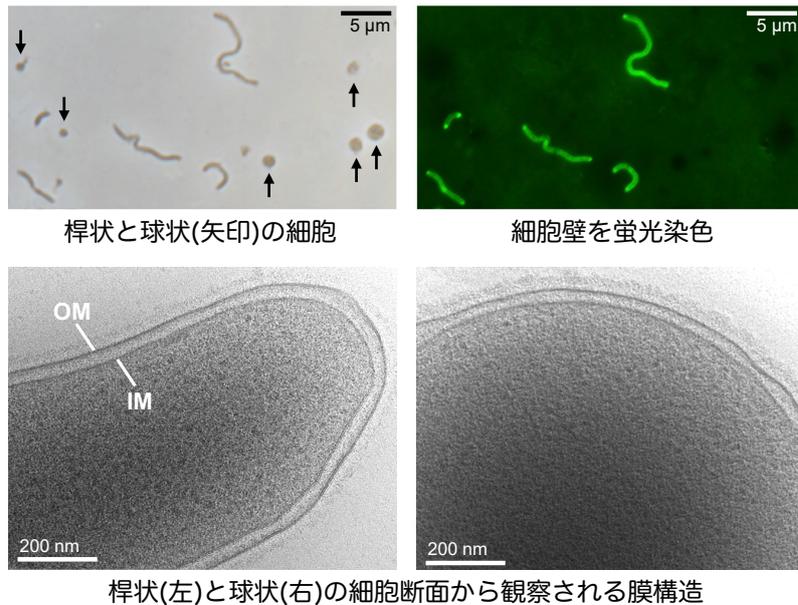
Marine Group A は, 1993 年に遺伝子情報解析にてその存在が初めて確認され (Fuhrman *et al.*, 1993), 世界中の海洋や酸素のない環境 (地下や堆積物環境) に広く生息することが知られています (Hawley *et al.*, 2017). しかし, このグループのバクテリアを実験室で培養した例はなく, 遺伝子の発見から今回の培養株の獲得に至る約 30 年もの間, その生物学的特性は解明されていませんでした.

IA91 株は, 無酸素環境下で酵母エキスを利用して, 発酵によりエネルギーを得て生きるバクテリアです. この株が増殖するためには, 酵母エキスだけでは十分ではなく, 他のバクテリアの培養液を必要とします. このような IA91 株の増殖メカニズムを解明する手がかりは細胞の形状にありました. 良好に増殖している IA91 株の細胞は棒状 (桿状) の形をしています, 他のバクテリアの培養液がないと, 不揃いで歪な球状に変形してしまい, 増殖しなくなってしまう (第 1 図). 細胞の形状を決めるのは細胞壁と呼ばれる成分です. バクテリアは細胞壁がなくなると, 膨圧によって細胞が球状になることが知られています. このことから, IA91 株は細胞壁を自身で合成できず, 他のバクテリアの培養液に含まれる細胞壁成分を取り込むことで桿状の細胞を形作り, 増殖していると考えられます. 実際, 細胞壁を染色してみると, 桿状の細胞は細胞壁が検出されたのに対し, 球状の細胞は検出されませんでした (第 2 図). さらに, IA91 株のゲノム配列を調べてみると, 細胞壁を構成する糖とアミノ酸の合成に必要な遺伝子が欠けていることが判明しました. そこで, 培養実験により, 細胞壁を構成する要素を糖・アミノ酸にまで分解したものを与えましたが, IA91 株は球状に変形し増殖しませんでした. IA91 株が唯一桿状となって増殖を示したのは, 細胞壁の断片である

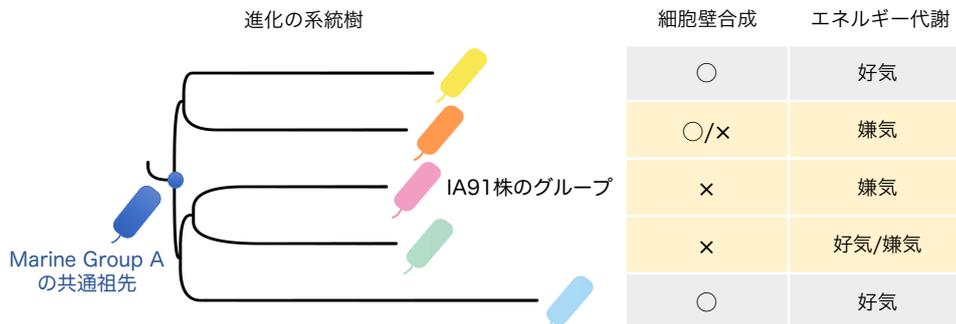
ムロペプチド (MP) と呼ばれる物質でした. また, その際, MP がどのような種のバクテリアに由来するかは関係がないこともわかりました. 一般的に, バクテリアは細胞壁の合成と分解を繰り返しながら増殖します. この時, 細胞壁を MP まで分解し, それを再び細胞内に取り込んで細胞壁合成へとリサイクルすることが知られています. IA91 株は, 他のバクテリアがリサイクルするはずの MP を拝借して, 自身の細胞壁の合成に利用していたのです (第 1 図).

増殖中のバクテリアが近くに存在しない場合, 細胞壁のない IA91 株の球状の細胞は膨圧に耐えられず, 細胞が膨張し, ついには死んでしまいます. このような致死性のリスクと引き換えに得たものは何でしょうか. ゲノム配列情報から推定された細胞壁合成の化学反応経路に基づくと, 細胞壁を自分で一から合成するよりも他のバクテリアから得た MP を取り込んで利用した方が, 合成に必要なエネルギーを 7 割も削減できると算出されました. さらに, IA91 株は取り込んだ MP を細胞壁以外の細胞成分 (例えば, 細胞膜を構成する脂肪酸) やエネルギー源としても活用するだけでなく, その過程で産出する副産物 (乳酸) をも無駄なく利用していることが明らかになりました.

酸素呼吸に比べると, 無酸素下 (嫌気的な環境下) での発酵は, ごくわずかにしかエネルギーを獲得できない代謝様式です. 地下圏のようなエネルギー源も乏しく酸素も利用できない環境に生息するバクテリア (つまり IA91 株) にとって, 上記のエネルギー節約術は, 実環境下での生存に非常に有効であると考えられます. 大規模ゲノム情報に基づいて進化系統的な解析を進めると, IA91 株の持つ MP 拝借戦略は, この菌が属する Marine Group A の共通祖先も有していた性質である可能性が示唆されます. Marine Group



第2図 IA91株の細胞形状と内部構造を示す蛍光染色写真(上)とクライオ電子顕微鏡写真(下)。細胞壁を染色すると桿状細胞は染まるが球状細胞は全く染まらないことから、細胞壁の有無で形態が変化していると示唆される(上)。電界放出形クライオ電子顕微鏡(CRYO ARMTM 300 II)を用いて、世界最高レベルの分解能で自然状態に近い細胞の細胞壁を直接観察してみると、桿状細胞の外膜(OM)と内膜(IM)の間に存在するはずの細胞壁の層は認められないことから(下)、IA91株は非常に厚さの薄い細胞壁を有していると推察される。



第3図 Marine Group Aの進化と細胞壁合成・エネルギー代謝の関係。Marine Group Aの共通祖先から派生した5つのグループのうち、IA91株のグループ(ピンク色)と他の2つのグループ(オレンジ色・緑色)のほとんどは細胞壁を合成できない。また、これら3つのグループはいずれも無酸素環境に生息し、嫌氣的に(酸素を使わずに)エネルギーを獲得する。一方、黄色と水色のグループは酸素呼吸ができ、十分なエネルギーを得て自身で細胞壁を合成する。細胞壁合成に関する遺伝子などの解析に基づくと、共通祖先(青色)は嫌気エネルギー代謝を有し、細胞壁も合成できなかったと推定された。IA91株以外は、環境から直接得られた未培養微生物に由来するゲノム配列情報を用いて解析を行った。

Aの進化の過程で、無酸素かつエネルギー源に乏しい環境に生息するグループは細胞壁の合成を他のバクテリアに依存してきた一方で、酸素呼吸能を獲得して有酸素環境に生息域を広げたグループは自身で細胞壁を合成する道を行ってきたと推察されます(第3図)。

4. おわりに

微生物学では、バクテリアは糖とアミノ酸から構成され

る細胞壁を持ち、細胞内外を隔てる重要な役割を果たしているとされています。例外的に細胞壁を持たない種も少数存在しますが、バクテリアが自らの細胞壁を合成することは「当たり前」と考えられています。したがって、他種に依存しなければ細胞壁を合成できないバクテリアが存在するという今回の発見により、微生物学の常識を覆したと言えます。さらに、この性質が進化の過程で保存されていたことから、自然環境での生態学的意義も見出されました。IA91株のように極端な例でなくとも、自ら細胞壁を合成で

きるにもかかわらず、他種のMPを利用することで細胞壁合成エネルギー消費を抑えるバクテリアが存在し得ることも容易に想像できます。

このように、微生物同士の相互作用を理解することは社会的にも重要です。例えば、化学物質で汚染された土壌や水を微生物で分解するバイオレメディエーション技術では、分解の高効率化が求められます。汚染物質の分解は複数の微生物種が協調または競合して行うため、分解に関する微生物間の関係性を把握することが高効率化に直結します。今後も、培養を基盤とした微生物間の相互作用の解明を通じて、学術的および社会的に意義のある研究を進めていきたいと考えています。

文 献

- Fuhrman, J. A., McCallum, K. and Davis, A. A. (1993) Phylogenetic diversity of subsurface marine microbial communities from the Atlantic and Pacific Oceans. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 1294–1302.
- Hawley, A. K., Nobu, M. K., Wright, J. J., Durno, W. E., Morgan-Lang, C., Sage, B., Schwientek, P., Swan, B. K., Rinke, C., Torres-Beltrán, M., Mewis, K., Liu, W.-T., Stepanauskas, R., Woyke, T. and Hallam, S. J. (2017) Diverse Marinimicrobia bacteria may mediate coupled biogeochemical cycles along eco-thermodynamic gradients. *Nature Communications*, **8**, 1507.
- Katayama, T., Yoshioka, H., Muramoto, Y., Usami, J., Fujiwara, K., Yoshida, S., Kamagata, Y. and Sakata, S. (2015) Physicochemical impacts associated with natural gas development on methanogenesis in deep sand aquifers. *The ISME Journal*, **9**, 436–446.
- Katayama, T., Nobu, M. K., Kusada, H., Meng, X. Y., Hosogi, N., Uematsu, K., Yoshioka, H., Kamagata, Y. and Tamaki, H. (2020) Isolation of a member of the candidate phylum 'Atribacteria' reveals a unique cell membrane structure. *Nature Communications*, **11**, 6381.
- Katayama, T., Nobu, M. K., Imachi, H., Meng, X. Y., Morinaga, K., Hosogi, N., Yoshioka, H., Takahashi, H. A., Kamagata, Y. and Tamaki, H. (2024) A Marine Group A isolate relies on other growing bacteria for cell wall formation. *Nature Microbiology*, **9**, 1954–1963.
- Tamaki, H., Tanaka, Y., Matsuzawa, H., Muramatsu, M., Meng, X. Y., Hanada, S., Mori, K. and Kamagata, Y. (2011) *Armatimonas rosea* gen. nov., sp. nov., of a novel bacterial phylum, *Armatimonadetes* phyl. nov., formally called the candidate phylum OP10. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **61**, 1442–1447.
- Zhang, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Hugenholtz, P., Kim, H., Kamagata, Y. and Nakamura, K. (2003) *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating microorganism, the first cultured representative of the new bacterial phylum *Gemmatimonadetes* phyl. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **53**, 1155–1163.

KATAYAMA Taiki (2024) Discovery of a bacterium that takes advantage by relying on other bacteria.

(受付：2024年6月13日)