

生命の黎明期に分岐した未知の細菌

Gemmatimonas aurantiaca

ジェマティモナス オーランティアカの発見

細菌系統で日本初の新「門」の認定

最も単純な生物である細菌は地球上の至る所に生息しており、その多様性も極めて大きい。現在までに6000種を超える細菌種が分離されているが、この数は環境中の細菌群集のごく一部に過ぎないという考え方が一般的である。下水処理場において排水処理に関わっている細菌群集の全体像もまた明らかになってはならず、その大部分が未知細菌により占められている。生物機能工学研究部門では、網羅的な未知細菌の探索という研究過程で、下水浄化を担っている細菌群集の中に、これまで知られていなかった全く新しい系統に分類される細菌がいることを発見した。この細菌を、新しい生物としてジェマティモナス オーランティアカ (*Gemmatimonas aurantiaca*) と名付けたが、特定遺伝子(16S rRNA 遺伝子)を用いた系統学的解析から、今までに知られているどの細菌とも近い関係にはなく、「門」という大きな分類階級レベルで新しい系統群に分類されることが明らかになった。このような分析結果を受けて、この細菌を代表とした完全に新たな分類門、ジェマティモナデテス門(*Gemmatimonadetes*)を提案し、認定された。細菌系統における、このような新門提案および受理は日本では初めての事である。

地球上の細菌群集の99%は未知細菌で占められている

基本的に単細胞という形態を持ち、最も単純な生物であるとされる細菌（バクテリア）は地球上の至る所に分布している。例えば土の中や海中、空気中、温泉水中、地下岩盤中、あるいはヒトの口や大腸の中など、様々な環境中に生息している。もし顕微鏡を持っているのであれば、いかなる場所においても、我々は細菌を簡単に発見することが出来る。現在までに多種多様な細菌が様々な環境中から発見され、その形態や生理学的性質が明らかにされて来ている。しかし、その一方で、今日までに明らかにされている細菌のバリエーションは、環境生態系を構成する全細菌のその1%にも満たないものであると考える研究者が数多く存在している。つまり、細菌群集の99%以上が未だ素性の明らかになっていないもので占められているというのだ。実際、一握りの土やコップ一杯の海水ですら、数え切れないほど大量の未知の細菌（未だ培養されたことのない細菌）を含んでおり、我々はその中に存在する細菌の全体像についてはほとんど無知であると言える。

近年、環境中の微生物に含まれる特定の遺伝子配列(16S rRNA 遺伝子という、すべての細菌に存在する遺伝子配列)を標的として、直接、細菌の多様性を解析する手法が盛んに行われるようになってきた。このような「培養に依存しない環境細菌相多様性解析」により、細菌の多様性は現在知られているものよりも遙かに大きいことが、同様に示唆されて来ている。このような解析結果を受けて、環境中の未知細菌の探索が重要な課題となって来ている。当研究部門生物資源情報基盤研究グループは、未だほんの一部しか明らかになっていない細菌多様性の全解明を究極の目的とし、網羅的な新規細菌の環境からの分離を精力的に行ってきた。

未知細菌を発見する戦略

細菌の場合、その生理学的・生化学的性質を解明するためには、純粋培養による増殖系を確立する事が必要となる。これを分離（または単離）と呼ぶが、これが達成されない限り細菌の正確な性状把握は不可能である。細菌を分離培養する方法としては、一般に寒天培地の上に菌液を塗り広げる平板培養法や液体培地を

用い確率的に細胞数が1個となるような状態まで希釈する限界希釈法が使われる。当研究グループでも、新規細菌の分離に関して、このような従来の方法を基本的に用いている。しかし、効率的な未知細菌の発見のためには、従来と異なる手法を取り入れる必要がある。なぜなら、従来の方法に頼ってばかりでは、今までに見付けられてきた細菌と同様のものしか得ることが出来ない公算が大きいからである。そのため、当研究グループは以下の4つの簡単な戦略を立てる事とした。

1) 現行の分離培地に若干の変更を加えてみる

多くの環境中の栄養濃度は極めて低いので、従来に比べ低栄養の培地を使用する等。

2) 生育速度の遅いものをねらう

従来は生育速度の速いものを研究対象にしている事が多かったという理由から。

3) 「普通ではない環境」を分離対象とする

温泉などの高温環境や大深度地下、化学物質汚染土壌等には特殊な細菌が生息している可能性が大である。

4) 二者培養 (co-culture) での増殖を試みる

単独では生育出来ない細菌を、その共生微生物とともに培養し、増殖させるという手法。

これらは皆極めて単純な戦略ではある。しかし、これらを単独で、または組み合わせて用いることにより、従来のものとは系統的に(同時にその性質も)異なる新規な細菌を環境中から効率よく分離することが出来た。例えば、酸素の発生を伴わない原始的な光合成を行う新規好熱性繊維状細菌 *Roseiflexus castenholzii* は温泉集中の微生物皮膜(マイクロバイアル・マット)と呼

ばれる微生物集落から、シアノバクテリア(植物と同様の光合成を行う細菌)との二者培養により増殖に成功した細菌である(写真1)。また、硫黄を大量に含む温泉水中から酸素感受性の高い(酸素に弱い)新規硫酸還元菌 *Thermodesulfobium narugense*、そして大深度地下(-550m)において、無酸素条件下で生育可能な好熱性細菌 *Thermanaeromonas toyohensis* (写真2)などは、「普通ではない環境」を対象として分離を試み、得ることができた新規細菌である。これらを含め、我々は多数の新規未知細菌を発見し、命名・提案を行ってきた。

Gemmatimonas aurantiaca の 発見・新門提案

国内初の「新門」の提案の標準菌となった *Gemmatimonas aurantiaca* もこのような研究の中で発見されたもののひとつである(写真3)。この細菌は、従来の方法に比べ長い培養時間(2週間以上)の後に現れてくる増殖速度の遅いものを選択するという手法を用いて、下水処理システム中の細菌群集より分離された。細胞の直径が $0.7 \mu\text{m}$ 、長さは $2.5\text{-}3.2 \mu\text{m}$ 程度の、我々と同様酸素呼吸によって生育する細菌であったが、16S rRNA 遺伝子配列に基づく系統解析から、いかなる既存菌株とも配列相同性が極めて低く、「門」という細菌系統内の最高分類階級レベルで他者と隔たっていることが明らかとなった。このような系統分類学的特殊性を受けて、本菌株を完全に新たな分類門 (*Gemmatimonadetes* phyl. nov.) を代表する新属新種、

写真1 新規好熱性繊維状光合成細菌
Roseiflexus castenholzii (Bar = $10 \mu\text{m}$)

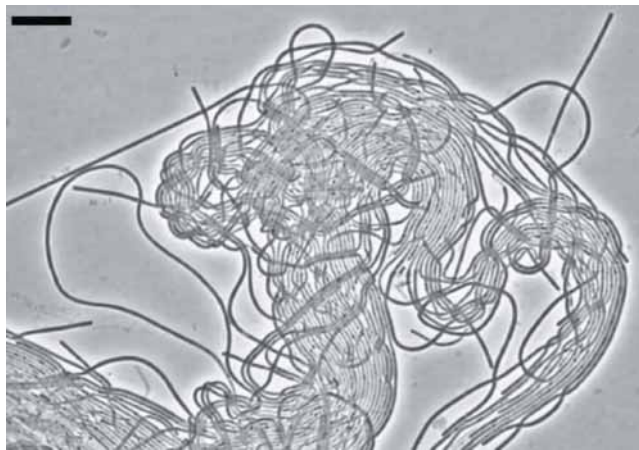


写真2 新規好熱性嫌気性細菌
Thermanaeromonas toyohensis

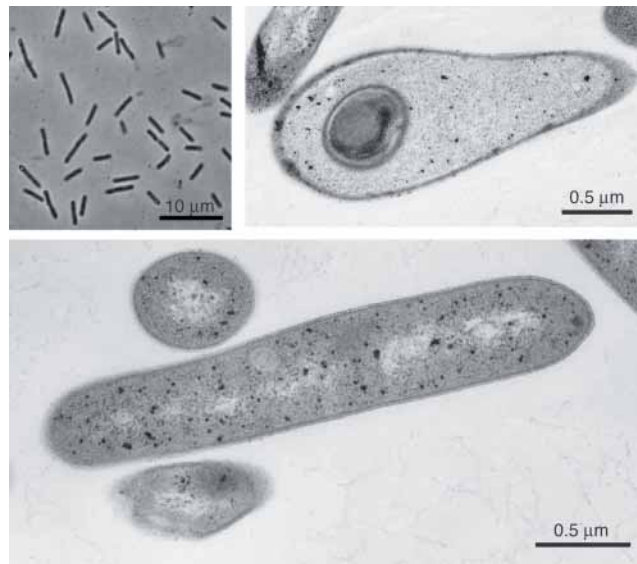


写真3 *Gemmatimonas aurantiaca* の電子顕微鏡写真
(Bar=10 μm)



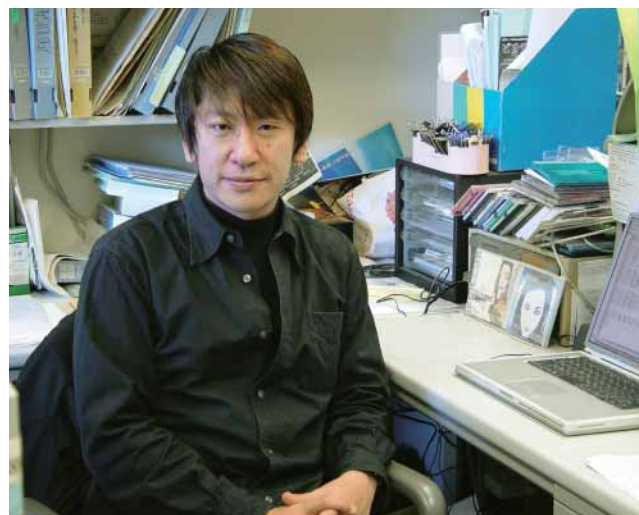
Gemmatimonas aurantiaca gen. and sp. nov.として国際微生物系統進化雑誌 (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology) 上で提案し、受理された。これは、細菌を含む原核生物全体の系統分類を統括する「原核生物系統学に関する国際委員会 (ICSP: International Committee on Systematics of Prokaryotes)」により、本門の提案が認定されたことを示している。細菌系統における、このような新門提案および受理は日本で初めての事である。

Gemmatimonas aurantiaca は下水処理システム中の細菌群集中に見出された細菌であり、排水浄化に関わっているものと考えられる。この細菌の特徴のひとつとして、排水中に含まれるリンを菌体内に取り込み、蓄積する能力を挙げる事が出来る。リンはそれ自体が強い毒性を持つ物ではないが、川や湖の汚濁 (富栄養化) の原因となる物質である。現在までの研究から、この新規細菌がリン除去に関して重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。*Gemmatimonas aurantiaca* のリンの取り込み機構の研究を進めることにより、難しいとされる排水中の生物学的リン除去の制御に有用な知見を与えることが出来るものと期待している。

更なる未知細菌の探索

環境中には、存在することは分かっているが、その菌学的性質が全く解明されていないといった細菌が未だ多数存在している。それらの生理学的・生化学的・形態学的情報を得るためには、やはり「分離培養」という手法を用い単離菌株を得ることが不可欠である。従来の分離培養法に若干の修正を加えるだけで、新規な微生物を手に入れる可能性が大きく広がること

が分かってきた今、新たな視点での分離培養法の開発を行い、環境中の未知なる微生物を獲得する努力を続けていきたい。このような地道な試みこそが、未だ部分的にしか明らかになっていない微生物多様性の全解明に結びついていくものと信じている。



生物機能工学研究部門生物資源情報基盤研究グループ 花田 智

【用語解説】

(1) 細菌の系統分類について

ヒトの系統分類は上位から動物界、脊椎動物門、哺乳綱、霊長目、ヒト科、ホモ属、ヒト (種名) となっている。細菌 (バクテリア) においても、この分類階級はほぼ同等であり、例えば大腸菌 (*Escherichia coli*) であれば、上位より *Proteobacteria* 門、*Gammaproteobacteria* 綱、*Enterobacteriales* 目、*Enterobacteriaceae* 科、*Escherichia* 属、*coli* (種名) と分類される。ただし、細菌においては現在のところ「界」という階級はなく、「門」が最も大きな分類階級で、現時点で、すべての細菌は *Gemmatimonadetes* 門を含め 24 門に大きく分類されている。

(2) 16S rRNA 遺伝子配列

16S rRNA 遺伝子配列は、細胞内小器官であるリボソームに含まれる RNA 鎖をコードしている遺伝子の配列で、細菌では約 1500 個の塩基の配列長を持つ。すべての生物に存在している (真核生物では 18S rRNA 遺伝子と呼ばれる)、且つ進化速度が比較的遅いことから、分子時計として全生物の類縁関係や系統進化距離 (種分化した時期の古さ) を推定するのに広く用いられている。

● 問い合わせ

独立行政法人 産業技術総合研究所
生物機能工学研究部門
生物資源情報基盤研究グループ 花田 智

E-mail : s-hanada@aist.go.jp

〒 305-8566

茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6