

日本海溝堆積物に生息する微生物のゲノムの獲得

課題責任者

星野 辰彦 海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門 高知コア研究所

著者

星野 辰彦*¹

*¹ 海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門 高知コア研究所

キーワード: 海底下生命圏, 堆積物, メタゲノム, 日本海溝, IODP

1. 研究の背景

地球表面の7割を覆う海底堆積物はその平均厚みが700mであり、地球最大規模の生命圏である。全地球上の海底下堆積物に生息する微生物細胞数は、 $2.9\text{-}5.4\times 10^{29}$ 個と推定されており、これは地球全体の生物バイオマスの0.18-3.6%を占めている。海底下表層では、基質やエネルギーが豊富であるため微生物は比較的活発であり、沿岸の堆積物では1mlの堆積物あたり 10^9 細胞の微生物が存在しているが、深度と共に対数的に減少し数百メートルの深さではおおよそ1/1000に減少する。これは、成層した堆積物においては、基質やエネルギー物質の供給のほとんどは海水からに限られるので、表層付近の微生物によってそれらが使い切られてしまい、海底下深部に生息する微生物が得られるエネルギーが極わずかであることに起因している。

海底下堆積物に生息する微生物の増殖速度は非常に小さいと言われている。海底下堆積物を安定同位体ラベルした基質で培養し、炭素の取り込み速度から計算された微生物倍化時間は数万年-数千万年である(Hoehler and Jørgensen, 2013)。一方で、アミノ酸のラセミ化モデルから計算されたターンオーバー時間は200-4000年であると推定されている(Lomstein et al., 2012)。海底下堆積物中の微生物は、粒子の間に閉じ込められ地質学的なタイムスケールで極低エネルギーフラックスの環境にさらされることで、独自のコミュニティが形成される(Hoshino et al., 2020)。

この極低エネルギーフラックスの海底下の厳しい環境に適応したユニークな微生物群がどのように形作られているのかについては未だ不明な点が多く残されている。これまでに、直上の海水と堆積物表層微生物群集組成の比較により、堆積物表層の優占種が直上の海水と共通していることや(Walsh et al., 2016)、堆積物深部になるに従って微生物の種数が減少し、堆積物深部に生息する微生物コミュニティのほとんどがそれより上の堆積物にも生息する微生物種に支配されていることが示されている(Petro et al., 2017 and refs therein)。一方で、巨大地震などの地質学的イベントにともない発生する海底地滑りのようなプロセスにより堆積物の再構成が起こることも知られている。海底地滑りでは、新しい堆積物が古い堆積物の下に潜り込むため、海底下深部のエネルギーや基質が枯渇した環境に、再度それらが供給されることとなる。このようなプロセスが海底下堆積物中の微生物

群集組成やその機能にどのような影響を及ぼすのかは全くわかっていない。

2021年4月から2021年6月にかけて行われた国際深海科学掘削計画(IODP)第386次研究航海 Japan Trench Paleoseismology では、日本海溝(水深7,445-8,023m)から、過去の巨大地震による影響を受けた40mの堆積物コアが14地点から採取された。本研究では、海底下堆積物における微生物の進化適応プロセスやその機能を明らかにするべく、これらの堆積物コア試料からDNAを抽出し、メタゲノムシーケンシングにより得られた300を超えるシーケンスライブラリから微生物ゲノム(metagenome assembled genomes: MAGs)の再構築をおこなった。

2. 方法

IODP Exp.386により日本海溝沿い14地点から得られた堆積物を使用した。抽出した308のDNA試料について、Illumina社 HiSeqXにより150bpのペアエンドシーケンシングを行い、1試料あたり5-15Gbpのraw readsを獲得した。Raw readsのトリミングおよびアダプター配列の除去はTrimmomatic (Bolger et al., 2014)で実施した。TrimmomaticからさアプトットされたfastqファイルをES4にコピーし、その後の解析を実施した。

ショートリードのアセンブルはSPAdes (Bankevich et al., 2012)およびMegahit (Li et al., 2015)により実施した。得られたコンティグからのMAGの構築については、metaWRAP (Uritskiy et al., 2018)をデフォルトの条件で使用した。

3. 結果

まず、Trimmomaticによりトリミングしたリードのうち5サンプルについてSPAdesおよびMEGAHITによるアセンブルを異なるk-merで行い、高品位のMAGsを多数得るための条件を検討した。その結果、MEGAHITでk-merを21-141(10刻み)でアセンブルをおこなった時にもっとも多くのHigh-quality MAGが生成されたため、この条件を全体の解

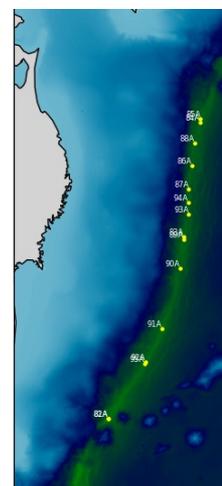


図1 サンプリング地点

析に採用した。MEGAHIT で生成したコンティグから metaWRAP パイプラインにより MAGs を生成しそのクオリティを評価した(図2)。その結果、各サイトから平均して 400 程度の MAGs が得られ、全サイトでは合計 5817 個の completeness が 50%より高い MAGs の獲得に成功した。また、completeness が 90%より高く、contamination が 5%未満の High-quality MAGs については、各サイトから平均 48 個

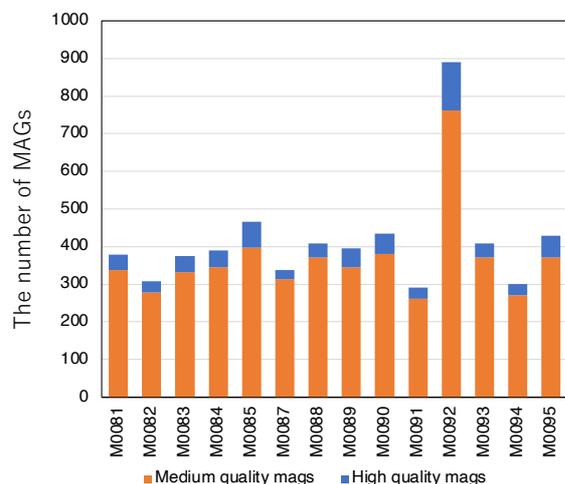


図2 本研究で得られたMAGの数

が得られ、合計では合計 676 個が獲得された。

また、676 個の High-quality MAGs のうち、29 個がアーキア、647 個がバクテリアに分類された。中でも世界中の嫌気的堆積物において優占化している Chloroflexota 門、Atribacterota 門、Aerophobota 門、Asgardarchaeota 門に属する High-Quality MAGs がそれぞれ、76, 12, 7, 7 個獲得され、今後これらのゲノムが持つ機能や予想される代謝を堆積物の物理化学的データと併せて解析することで、海底地滑りによる気質やエネルギー物質の再供給が海底下微生物に及ぼす影響や、超深海底において海底下微生物が炭素を

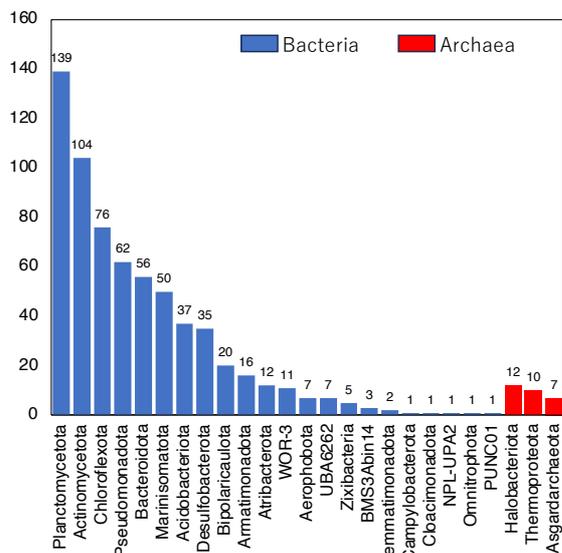


図3 HQ-MAGsの系統内訳

はじめとした元素循環に果たしている役割を明らかにすることに繋がることが期待される。

謝辞

本研究に使用したプログラムのコンパイル、インストール、ジョブの実行に関して、JAMSTEC の中川剛史氏に協力いただきました。サンプルの採取に早稲田大学の實野佳奈氏、そのほかの IODP Expedition 386 の乗船研究者および船上スタッフに協力していただきました。また、本研究を進めるにあたり JAMSTEC の稲垣史生氏、早稲田大学の竹山春子氏に助言をいただきました。上記の方々に感謝の意を表します。本研究は JSPS 科研費 JP22H00429 JP23K22618 の助成を受けたものです。

文献

[1] T. M. Hoehler and B. B. Jørgensen, "Microbial life under extreme energy limitation," *Nat Rev Microbiol*, vol. 11, no. 2, pp. 83–94, Feb. 2013.

[2] B. A. Lomstein, A. T. Langerhuus, S. D'Hondt, B. B. Jørgensen, and A. J. Spivack, "Endospore abundance, microbial growth and necromass turnover in deep sub-seafloor sediment," *Nature*, vol. 484, no. 7392, Art. no. 7392, Apr. 2012

[3] T. Hoshino *et al.*, "Global diversity of microbial communities in marine sediment," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 117, no. 44, pp. 27587–27597, Nov. 2020

[4] E. A. Walsh, J. B. Kirkpatrick, S. D. Rutherford, D. C. Smith, M. Sogin, and S. D'Hondt, "Bacterial diversity and community composition from seasurface to subseafloor," *ISME J*, vol. 10, no. 4, pp. 979–989, Apr. 2016,

[5] C. Petro, P. Starnawski, A. Schramm, and K. Kjeldsen, "Microbial community assembly in marine sediments," *Aquat. Microb. Ecol.*, vol. 79, no. 3, pp. 177–195, Jun. 2017

[6] M. Strasser, K. Ikehara, J. Everest, and Expedition 386 Scientists, *Japan Trench Paleoseismology*, vol. 386. in *Proceedings of the International Ocean Discovery Program*, vol. 386. International Ocean Discovery Program, 2023

[7] A. M. Bolger, M. Lohse, and B. Usadel, "Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data," *Bioinformatics*, vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120, Aug. 2014

[8] A. Bankevich *et al.*, "SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing," *Journal of Computational Biology*, vol. 19, no. 5, pp. 455–477, May 2012

[9] D. Li, C.-M. Liu, R. Luo, K. Sadakane, and T.-W. Lam, "MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct *de Bruijn* graph," *Bioinformatics*, vol. 31, no. 10, pp. 1674–1676, May 2015

[10] G. V. Urtskiy, J. DiRuggiero, and J. Taylor, "MetaWRAP—a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis," *Microbiome*, vol. 6, no. 1, p. 158, Dec. 2018,