

大規模ゲノム情報を活用した深海バイオリソース研究

課題責任者

平岡 聡史 海洋研究開発機構 海洋機能利用部門 生命理工学センター

著者

平岡 聡史*1

*1 海洋研究開発機構 海洋機能利用部門 生命理工学センター

キーワード: 微生物, バイオインフォマティクス, メタゲノム解析, タンパク質立体構造予測, エピゲノム解析

1. 背景

バクテリアやアーキア、ウイルスといった微生物は、土壌や大気、海洋など、地球表層のあらゆる環境に生息している。特に海洋では、光合成による一次生産が活発な海洋表層（水深 0–200 m）、暗黒・低温・高圧・貧栄養環境である深海（水深 200–約 11,000 m）、摂氏数百度にも達する高温熱水が吹き出す熱水噴出孔など、多様な環境が存在し、そこに生息する微生物は陸上とは大きく異なる群集構造や生態学的・生化学的特徴を持つ。しかし、特に深海環境における微生物試料の採取には高度な探査技術が必要であり、国際的にも実施可能な研究機関は限られている。そのため、深海微生物は他環境と比較して遥かに研究例が少なく、その生理生態の解明や他の自然環境との比較などは十分に進められていない。このことは、微生物を含む海洋生態系や、微生物が駆動する地球規模での物質循環の理解を困難にしているのみならず、産業利用を志向した深海微生物の遺伝子資源の開拓を進める上で大きな制約となっている。

微生物の大半は、実験室環境下での分離培養が困難である。そのため、環境微生物を理解し利用するためには、分離培養株を用いた実験的な観測や操作に加えて、培養実験に依存しない解析を実施する必要がある。今日、非培養的な微生物解析のために、様々なゲノムベースの手法が考案され、広く利用されている。例えば 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により、微生物叢を構成する原核生物系統の相対存在量を推定可能である。またメタゲノム解析では、微生物叢から直接 DNA を抽出しシーケンス解析を実施することで、微生物ゲノム情報に直接アプローチ可能である[1]。ロングリードシーケンシング技術をメタゲノム解析に応用することで、一般的なショートリードシーケンシングよりも高品質な微生物ゲノムの再構築や DNA 化学修飾（エピゲノム）解析も実施できる[2]。さらに、シングルセル解析に基づく Single Amplified Genome (SAG) の解析では、微生物の株レベルでのゲノム多様性解析や高精度な宿主-ウイルス関係推定が可能になり、従来の分離株ゲノム・メタゲノム解析を補完することが期待される。このような培養・非培養ベースのゲノム解析から得られたデータをもとに、詳細なバイオインフォマティクス解析を進めることで、環境微生物の生理生態の解明や有用な遺伝子資源の探索が可能である。

課題責任者の所属グループ（海洋機能利用部門 生命理工学センター 深海バイオリソース研究グループ）では、中長期計画「海洋資源の持続的有効利用に資する研究開発」の一環として、海洋環境に生息する原核生物やウイルスを対象とした培養・非培養ベースの研究を広く展開している[3,4,5,6,7]。本申請課題では、地球シミュレータシステムを活用し、海水や深海堆積物などに由来する試料から得られたアンプリコン配列・ゲノム配列・メタゲノム配列情報を対象に、幅広いバイオインフォマティクス解析を実施してきた。

2. 深海微生物が持つセルラーゼの解析

植物バイオマスの主要成分であるセルロースは、地球上で最大のバイオマス量を占めている。そして、微生物によるセルロースの生分解は、植物が光合成で固定した炭素を再び大気へと戻すプロセスであり、地球規模の炭素循環において重要な役割を果たしている。しかし、多くの研究は陸上の微生物によるセルロース分解に焦点を当てており、深海でのセルロース分解には未知が多く、酵素の生化学的な理解も限定的である。そこで本研究では、セルロース分解を超高感度に検出可能な先端ナノ計測技術「SPOT」[8]を活用し、富山湾の水深 800 メートルを超える深海から新たに分離した新奇深海微生物 TOYAMA8 株と、野間岬沖 200 メートルの深海から以前に分離した *Marinagarivorans cellulosityticus* GE09 株が持つセルロース分解酵素（セルラーゼ）の特性を調べた。

ゲノム解析やトランスクリプトーム解析、AlphaFold2/3 を用いたタンパク質立体構造予測を行った結果、これらの菌株が細胞膜に結合した高分子量のセルラーゼを生産し、効率的にセルロースを分解することが明らかとなった（図 1）。このことは、陸上微生物では大量の酵素を細胞外に放出してセルロースを分解することとは対照的に、深海微生物は酵素を細胞表面に保持することで、分解産物を無駄なく効率的に取り込むことが可能であることを示唆しており、深海の栄養が乏しい環境に適応した結果であると考えられる。また、セルラーゼをセルロース表面に繋ぎ止める部位が、陸上微生物由来の酵素とは全く異なるアミノ酸で構成されているなどの特徴も、新たに

発見した。さらに、これらの深海微生物はセルロース以外の植物由来多糖も分解できる一方で、海藻由来の多糖は分解できないことも判明した。この結果は、陸上植物のバイオマスが深海微生物にとって重要なエネルギー源であることを示唆している。[9]

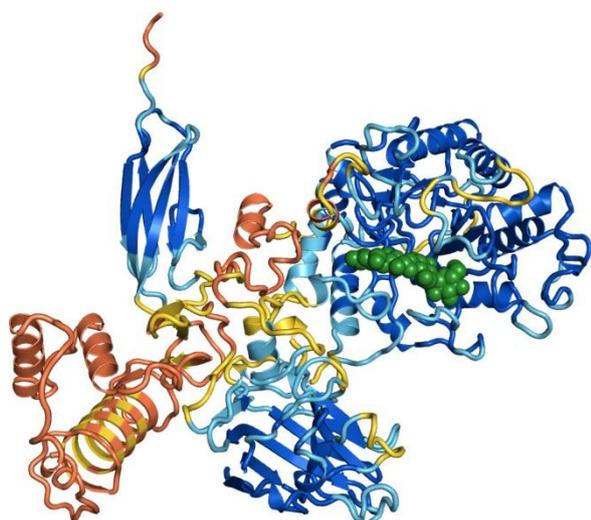


図 1. アミノ酸配列から予測された深海微生物由来のセルラーゼ酵素のタンパク質立体構造。

3. ピロリ菌と感染ファージを題材とした、感染適応によるエピゲノムと宿主指向性の変化に関する解析

多くの細菌は DNA をメチル化修飾する DNA メチル化酵素 (MTase) を保有しており、その一部は制限修飾系 (RM 系) としてファージ防御機構に関与している。胃癌リスクファクターであるピロリ菌は複数の RM 系を保有しており、ファージ防御機構として機能していると考えられている。しかしながら、宿主およびファージゲノム上の DNA 修飾を直接比較した報告はほとんどなく、感染効率との関係も明らかになっていない。本研究ではピロリ菌の対ファージ戦略を明らかにするため、宿主に適応したファージが宿主 MTase から獲得した DNA メチル化パターンを解析した。

まず、バクテリオファージ KHP30 を異なる RM 系を持つピロリ菌 3 株に多段階感染させ、複数の適応ファージ株を作成した。適応ファージ株の感染価を測定したところ、全ての株が最後に適応した宿主株に対してのみ高い感染価を示した。エピゲノム解析の結果、適応ファージは最後に適応した宿主と類似した DNA メチル化パターンを示し、宿主が持つ MTase に由来する DNA メチル化修飾を獲得していることが示唆された (図 2)。これらの結果から、ファージは感染時に宿主 MTase からメチル化修飾を受けることで、同一宿主株の保有する制限酵素による切断から免れ、結果として感染能が飛躍的に向上する (適応する) というメカニズムが示唆された。[10]

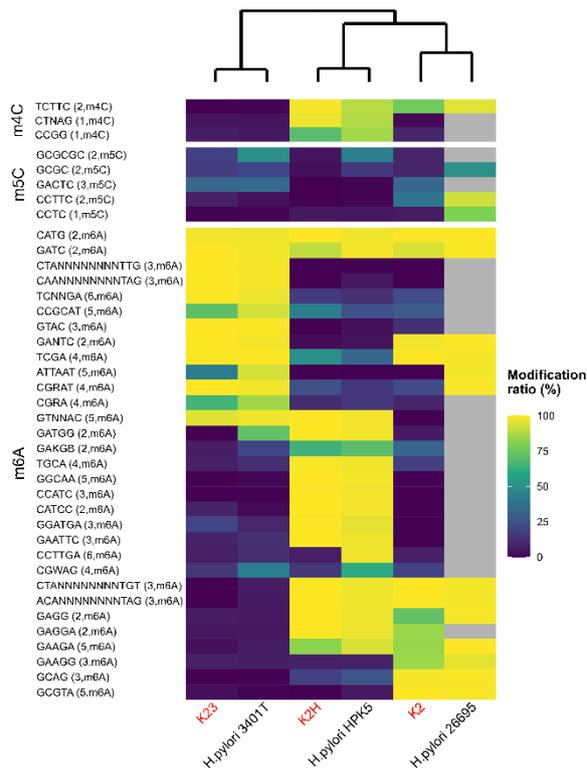


図 2. 適応ファージ 3 株とピロリ菌 3 株の DNA メチル化パターン。

謝辞

これらの研究は、海洋研究開発機構の地球シミュレーションシステムを利用してバイオインフォマティクス解析の一部を実施した。また、これらの研究は JSPS 科研費 (JP22K05398, JP23K18015)、JST 戦略的創造研究推進事業 ACT-X (JPMJAX22BK) 等の助成を受けた。

文献

- [1] S. Hiraoka, C.-C. Yang, and W. Iwasaki, "Metagenomics and bioinformatics in microbial ecology: Current status and beyond," *Microbes and Environments*, 31(3), 204-212, (2016)
- [2] S. Hiraoka, Y. Okazaki, M. Anda, A. Toyoda, S. Nakano, and W. Iwasaki, "Metaepigenomic analysis reveals the unexplored diversity of DNA methylations in an environmental prokaryotic community," *Nature Communications*, 10, 159, (2019)
- [3] S. Hiraoka, M. Hirai, Y. Matsui, A. Makabe, H. Minegishi, M. Tsuda, Juliarni, E. Rastelli, R. Danovaro, C. Corinaldesi, T. Kitahashi, E. Tasumi, M. Nishizawa, K. Takai, H. Nomaki, and T. Nunoura, "Microbial community and geochemical analyses of trans-trench sediments for understanding the roles of hadal environments," *The ISME Journal*, 14, 740-756, (2020)
- [4] S. Hiraoka, T. Sumida, M. Hirai, A. Toyoda, S. Kawagucci, T. Yokokawa, and T. Nunoura, "Diverse DNA modification in marine prokaryotic and viral communities," *Nucleic Acids Research*, 50, 1531-1550, (2022)

- [5] Y. Zhang, Y. Takaki, Y. Yoshida-Takashima, S. Hiraoka, K. Kurosawa, T. Nunoura, and K. Takai, "A sequential one-pot approach for rapid and convenient characterization of putative restriction-modification systems," *mSystems*, 8(6), e00817-23, (2023)
- [6] T. Sumida, S. Hiraoka, K. Usui, A. Ishiwata, T. Sengoku, K. A. Stubbs, K. Tanaka, S. Deguchi, S. Fushinobu, and T. Nunoura, "Genetic and functional diversity of beta-N-acetylgalactosamine residue-targeting glycosidases expanded by deep-sea metagenome," *Nature Communications*, 15, 3543, (2024)
- [7] S. Hiraoka, M. Ijichi, H. Takeshima, Y. Kumagai, C.-C. Yang, Y. Makabe-Kobayashi, H. Fukuda, S. Yoshizawa, W. Iwasaki, K. Kogure, and T. Shiozaki, "Probe capture enrichment sequencing of amoA genes discloses diverse ammonia-oxidizing archaeal and bacterial populations," *Molecular Ecology Resources*, e14042, (2024)
- [8] M. Tsudome, M. Tachioka, M. Miyazaki, K. Uchimura, M. Tsuda, Y. Takaki, S. Deguchi, "An ultrasensitive nanofiber-based assay for enzymatic hydrolysis and deep-sea microbial degradation of cellulose," *iScience*, 25, 104732, (2022)
- [9] M. Tachioka, M. Tsudome, M. Tsuda, S. Hiraoka, M. Miyazaki, Y. Takaki, S. Deguchi, "Characteristics of deep-sea cellulases: Key determinants of the ultimate fate of plant biomass on Earth," *Journal of Wood Science*, 70, 52, (2024)
- [10] M. Takahashi, S. Hiraoka, Y. Matsumoto, R. Shibagaki, T. Ujihara, H. Maeda, S. Seo, K. Nagasaki, H. Takeuchi, S. Matsuzaki. "Host-encoded DNA methyltransferases modify the epigenome and host tropism of invading phages," *iScience*, 112264, (2025)