

海底下堆積物における微生物群の進化適応プロセスの解明

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 物質科学研究グループ

キーワード：海底下生命圏，堆積物，メタゲノム，微生物生態

1. 研究の背景

地球表面のおよそ7割を多く海底か堆積物は、地球上で最大規模の生命圏であることが知られている。その堆積物の平均厚みは700mであり、体積は $3 \times 10^8 \text{ km}^3$ で海洋のおよそ2割に相当する (LaRowe et al., 2017)。しかしながら、海底下堆積物環境は海洋や表層土壌といったエネルギー豊富な環境とは大きく異なり、エネルギーフラックスの非常に小さい極限環境である (Hoehler and Jørgensen, 2013)。

このような極限環境であるにも関わらずそこに生息する微生物細胞の総数は $2.9 \sim 5.4 \times 10^{29}$ であると見積もられており、これは全海洋の微生物細胞数に匹敵する (Kallmeyer et al., 2012; Parkes et al., 2014)。また、その数のみならず微生物多様性についても地球上の他の生命圏に匹敵することが報告されている (Hoshino et al., 2020)。それと同時に、海底下堆積物に生息する微生物叢は他の生命圏とは大きく異なる独自のものであることもわかっている。

一般的な海底堆積物では質素やエネルギーの供給源は海水からの供給に限られており、表層付近の微生物の活動により深部ではそれらが枯渇する。そのため、沿岸の有機物リッチな堆積物では1mlの堆積物あたり 10^9 である細胞数は、堆積物深度とともに対数的に減少し深度が数百メートルに達すると1/1000程度まで減少する。したがって、深度数百メートルで生き残っている微生物群は、百万年にも及ぶ堆積過程で選択、もしくは適応・進化したものであると考えられる。

一方で、エネルギーフラックスが極小であるため細胞の増殖は制限されている。アミノ酸のラセミ化モデルに基づく推定では、海底下の微生物が一回分裂するのに要する時間はおよそ十年から百年と見積もられている (Braun et al., 2017)。このように増殖もほとんどせずに、堆積物粒子の間に閉じ込められている微生物のゲノムは変化しているのか、しているとすればどのように海底下の極限環境に適応しているのかについては、ほとんどわかっていない。

本研究においては、海底下堆積物から抽出したDNAから網羅的にメタゲノムライブラリを作成し、その解析をES4で行うことで、海底化生命圏における微生物の機能や

適応プロセスを理解することを目指している。

2. 方法

2021年の4月から6月にかけて行われた国際深海科学掘削計画 (IODP) 386次航海では、海底広域研究船「かいめい」により日本海溝軸に沿ってGPC (Giant Piston Corer) により、水深7,445-8,023mの超深海底全15地点からおよそ40mのコアリングが実施された。それぞれのコア試料から微生物分析用に1mおき、合計471個の堆積物試料が採取しすぐに冷凍された。冷凍堆積物試料5gからDNeasy PowerMax Soil Kit (キアゲン) DNAを抽出し、Illumina DNA Prep (イルミナ) を使用してショットガンメタゲノムライブラリを調製し、HiSeqXによる150bpのペアエンドシーケンスを実施した (平均24M reads, 6.6Gb/sample)。得られたDNA readsのアダプター除去、トリミングを行ったのち、Megahit (Li et al., 2015) でアセンブルを行った。Metagenome Assembled Genome (MAG) の構築については、metaWRAP (Uritskiy et al., 2018) を使用して前年度と同様にを行った。また、ショットガンメタゲノムデータの機

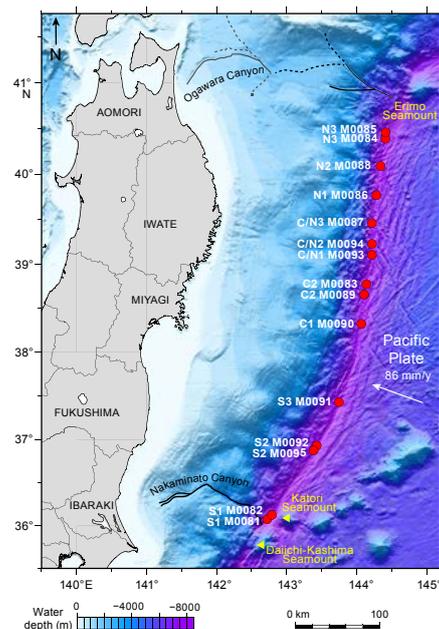


図1 IODP Exp. 386におけるサンプリング地点 (Strasser et al., 2023)

能アノテーションには、MetaCerberus(Figueroa et al., 2024)を使用した。今年度は Megahit によるアセンブルおよび metaWRAP による MAG の構築パイプラインについて、計算の並列化を行い、昨年度と比較し数倍程度計算資源量の圧縮を行うことができた。

3. 結果

日本海溝の堆積物は、過去の巨大地震に伴い形成されたタービタイト層を含んでいる。タービタイト層は海溝の斜面の表層堆積物が押し流されたものであり、規模の大きいものでは 10m 以上におよんでいる (Strasser et al., 2024)。これらの乱泥流では、成層した堆積物と異なる物理化学的特性を持っていると考えられる。一方で、間隙水の化学成分を代表する硫酸濃度の深度プロファイルはタービタイト層が存在しても表層から連続的に減少することが示されている (図2)。タービタイト層の形成と共に堆積物に取り込まれた硫酸濃度に影響を大きく受けると思われる硫酸還元細菌が、その埋没過程でどのように変化適応してくのかを明らかにするため、機能アノテーションの結果から各深度における硫酸還元遺伝子の割合 (RPKM) を算出した。その結果、間隙水の硫酸濃度の減少に伴って硫酸還元を担うキー遺伝子である *dsrAB* の割合が減少していることが示され、地震による乱泥流に伴い堆積物に取り込まれた当時の微生物群集が間隙水の成分をはじめとした環境に適応し、再構成されていることが明らかとなった (図2)。

全 308 サンプルの機能アノテーションの結果から、FOAM(Prestat et al., 2014)に基づいて各々の堆積物試料の機能的多様性を解析した。その結果に基づき、タービタイト層に有意に多く存在している機能として、ピルビン酸発酵、硝酸還元、硫化水素または硫黄酸化が特定された。発酵についてはタービタイト層形成時の有機物の供給により生成したピルビン酸に起因していることが推察される。また、そのほかの遺伝子については、堆積物表層で見られる反応に関わるものであり、乱泥流により形成された微生物群がそのまま残存していることが示唆された。

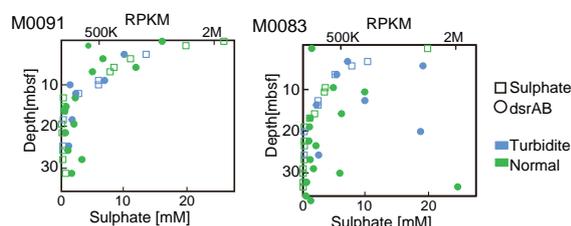


図2 掘削地点 M0091 (左図) および M0083 (右図) における硫酸濃度 (四角) と *dsrAB* 遺伝子の相対発現量 (丸) の深度分布。青はタービタイト層 (堆積物が急激に堆積した層)、緑は通常の堆積層を示す。RPKM=Reads Per Kilobase of exon per Million mapped reads

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

LaRowe DE, Burwicz E, Arndt S, Dale AW, Amend JP. Temperature and volume of global marine sediments. *Geology*. 2017 Mar 1;45(3):275–8.

Hoehler TM, Jørgensen BB. Microbial life under extreme energy limitation. *Nat Rev Microbiol*. 2013 Feb;11(2):83–94.

Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR, Smith DC, D'Hondt S. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012 Oct 2;109(40):16213–6.

Parkes RJ, Cragg B, Roussel E, Webster G, Weightman A, Sass H. A review of prokaryotic populations and processes in sub-seafloor sediments, including biosphere:geosphere interactions. *Marine Geology*. 2014 Jun;352:409–25.

Hoshino T, Doi H, Uramoto G-I, Wörmer L, Adhikari RR, Xiao N, et al. Global diversity of microbial communities in marine sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 2020 Nov 3;117(44):27587–97.

Braun S, Mhatre SS, Jaussi M, Røy H, Kjeldsen KU, Pearce C, et al. Microbial turnover times in the deep seabed studied by amino acid racemization modelling. *Sci Rep*. 2017 Jul 18;7(1):5680.

Li D, Liu C-M, Luo R, Sadakane K, Lam T-W. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct *de Bruijn* graph. *Bioinformatics*. 2015 May 15;31(10):1674–6.

Uritskiy GV, DiRuggiero J, Taylor J. MetaWRAP—a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis. *Microbiome*. 2018 Dec;6(1):158.

Figueroa Iii JL, Dhungel E, Bellanger M, Brouwer CR, White Iii RA. MetaCerberus: distributed highly parallelized HMM-based processing for robust functional annotation across the tree of life. *Biol I*, editor. *Bioinformatics*. 2024 Mar 4;40(3):btac119.

Strasser M, Ikehara K, Everest J, Expedition 386 Scientists. Japan Trench Paleoseismology [Internet]. *International Ocean Discovery Program*; 2023

Prestat E, David MM, Hultman J, Taş N, Lamendella R, Dvornik J, et al. FOAM (Functional Ontology Assignments for Metagenomes): a Hidden Markov Model (HMM) database with environmental focus. *Nucleic Acids Research*. 2014 Oct 29;42(19):e145–e145.