

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) 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（当時））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、海洋や他の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きた[3,4,5,6,7,8,9]。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た。

2. バクテリア・アーキア由来の Wood-Ljungdahl 経路による直接的な一酸化炭素固定に関する研究

Wood-Ljungdahl (WL) 経路は、バクテリアとアーキアを跨ぐ原核生物に広範に分布する、二酸化炭素 (CO₂) から炭素を固定する代謝経路である。本経路では 2 分子の CO₂ を基質として、それぞれの CO₂ は漸進的還元（メチル分枝）と、一酸化炭素 (CO) への一段階還元（カルボニル分枝）という、異なる 2 つの経路を経てメチル基と CO へと還元される。経路の最終段階では、メチル基、CO、およびコエンザイム A (CoA) が一酸化炭素脱水素酵素 (CODH) /アセチル CoA 合成酵素 (ACS) 複合体を形成し、アセチル CoA が生成される。一方で、CODH 遺伝子は配列多様性に富み、その触媒機能を推察するためには網羅的な相同性解析が必要である。本研究では、全原核生物が有する CODH 遺伝子配列の系統樹を再構築し、その機能を予測した。続けて、¹³C トレーサーを用いたメタボロミクス解析により、水素栄養条件下でアーキアとバクテリアの両方の WL 経路において、アセチル CoA のカルボニル基への CO を直接の基質とした炭素固定が行われることを明らかにした。メタボロミクスとプロテオミクス解析の組み合わせにより、水素栄養条件下で培養された *Thermodesulfator indicus* 属と *Archaeoglobus* sp. MCR 株は、遊離型 ACS を用いて低濃度の CO を直接固定することが示唆された。対照的に、カルボキシド栄養条件下で培養した MCR 株は、CODH/ACS 複合体を CO 固定ではなく CO₂ 固定に利用することが判明した。遊離型 ACS による直接的な CO 固定は、熱力学的に困難な CODH による CO₂ 還元と比較して、還元型フェレドキシンの保存に有利であった。これらの発見は、初期地球における最も古い無機炭素固定経路と地球化学循環の起源と進化に関する更なる知見をもたらす成果である。[10]

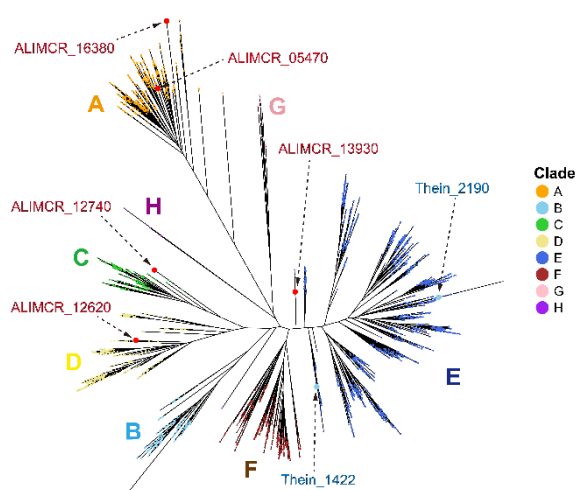


図 1. CODH の系統樹。

3. 未培養海洋ウイルスが持つDNAメチル化酵素に関する解析

多くの原核生物やウイルスはゲノム中に、DNA をメチル化修飾する DNA メチル化酵素 (MTase) 遺伝子を保有している。原核生物では、その一部が制限修飾系 (RM 系) としてファージ防御機構に関与するほか、遺伝子発現制御や DNA 切断修復機構に関与する例も知られている。一方で、ウイルスが持つ MTase についてはその役割はほとんど分かっておらず、MTase 活性を検証した報告例もほぼ存在しなかった。本研究では、以前発表した海洋微生物叢の網羅的エピゲノム解析 (メタエピゲノム解析) のデータを利用し[4]、ウイルスが持つエピゲノムと MTase に着目した実験的検証を行った。結果、メチル化モチーフが推定された 10 の MTase について、大腸菌をベースとする異種発現系を用いたタンパク質発現と、制限酵素を用いたメチル化修飾アッセイを実施した。その結果、3 つの MTase について、メチル化モチーフを実験的に同定することに成功した。本研究は、今まで見過ごされてきた環境中の未分離・未培養ウイルスが持つ MTase 酵素の活性を検証した初の成果であり、ウイルス-宿主相互作用におけるエピゲノムの役割に更なる知見をもたらす成果である。

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パ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、JP25K18446)、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. 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)
- [9] 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)

[10] Y. Fukuyama, S. Sakai, Y. Chiba, S. Shimamura, S. Hiraoka, T. Wakashima, T. Nunoura, K. Takai. "Direct carbon monoxide fixation via the bacterial and archaeal Wood–Ljungdahl pathways," *bioRxiv*. 10.1101/2025.10.29.685450v1 (2025)