

海底下堆積物における微生物群集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

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7割を覆う海洋の底には広大な堆積層が存在する。その平均厚みは700m、総体積は $3 \times 10^8 \text{ km}^3$ であり海洋の全水量のおよそ2割に相当する規模である[1]。この広大な生命圏に多くの微生物が生息していることが発見されたのは1990年代のことである。以降、IODPをはじめとする科学掘削航海により世界各地で微生物学的な調査が実施されてきた。その結果、現在では地球上の微生物の約4割がこの海底下堆積物中に生息していると試算されている[2-4]。

膨大な数の微生物群を含有する海底生命圏の根幹的な特徴は、その極めて低いエネルギーフラックスにある。多くの海域では、静穏に堆積が進行し、海水由来のエネルギーや基質の大部分が海底表層の生物により消費される。その結果、より深いところに生息する微生物は、長期にわたって慢性的なエネルギー不足に直面することとなる。こうした環境下では、微生物の倍加時間は100年以上に達する可能性が示唆されている[5]。微生物が能動的に動くためのエネルギーさえ欠乏するため、微生物は圧密が進む堆積物粒子間に地質学的なタイムスケールで隔離される。

従来の環境適応や進化に関する知見は、主に微生物が活発に増殖する地球表層での観測に基づき構築されてきた。対照的に、全微生物の約4割を収容する海底下堆積物環境において、どのような進化・適応プロセスが進行しているのかは、依然としてその多くが未解明である。

本課題では、海底下堆積物から構築したメタゲノムライブラリに基づき微生物ゲノムを復元することで、当該環境における微生物の進化・適応メカニズムの解明に取り組んでいる。

2. 方法

地球上の堆積物の大半を占める嫌気的環境の代表として、2006年に地球深部探査船「ちきゅう」により行われたCK-06-06航海において掘削された下北半島沖C9001サイトを選定した(図1)。

掘削されたコアから試料の海底下5mから296mに至る

まで10mおきに計31点の堆積物試料をサブサンプリングし、DNeasy PowerMax Soil Kit (キアゲン)を使用しDNAを抽出した。抽出したDNAから夾雑物を除くため、ゲル濾過(CHROMA SPIN™カラム、Clontech)による精製を実施した。精製DNAから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。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 [6]でアセンブルを行った。Metagenome Assembled Genome (MAG) の構築については metaWRAP [7], MAGの機能アノテーションには、MetaCerberus [8]を使用した。

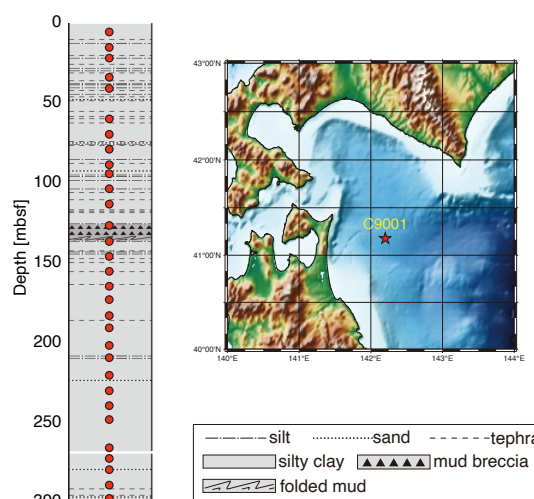


図1 サンプリング深度および掘削サイト

左図：堆積物の岩相(Domitsu et al., 2010を改変)。赤丸はサンプリングした深度を示す。右図：赤い星印はサンプリングサイトの位置を示す。

3. 結果

MetaWrapによるMAGの構築の結果、全31のメタゲノムライブラリから Medium-quality MAG が3993個、High-quality MAG が224個生成された(図2)。

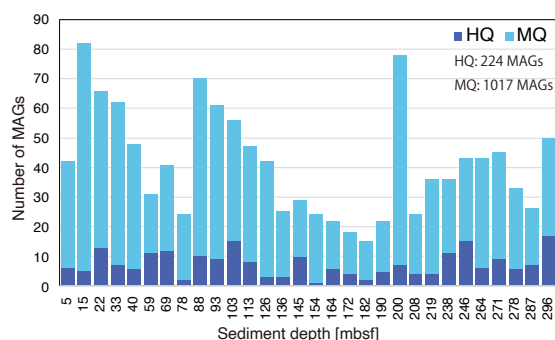


図2 各堆積深度において回収された metagenome-assembled genomes (MAGs) の数。High-quality (HQ) MAGs は completeness > 90%, contamination < 5%, Medium-quality (MQ) MAGs は completeness 50-90%, contamination < 10% の基準を満たすものと

一般に、貧栄養や低エネルギーフラックス環境下では、資源利用の効率化に伴いゲノムサイズが縮小する「ゲノム・ストリーミング理論 [9]」が知られている。そこで、極低エネルギー環境である海底下堆積物において、深度に伴うゲノム縮小が生じているか検証した。MicrobeCensus [10]を用いて各深度の平均ゲノムサイズを推算した結果、その平均値は約 4.7 Mb であり、深度に伴う有意な減少傾向は認められなかった。また、海底下堆積物の主要な分類群ごとに、推定完成度に基づきゲノムサイズを算出したところ、JS1 や Dehalococcoidia は 1.5-2.5 Mb と小規模、Lokiarchaeia は 4-6 Mb と比較的規模が大きいという分類群間の差異は確認されたが、いずれの群においても深度方向への明瞭な変化は見られなかった。このことは、海底下堆積物中でストリーミング

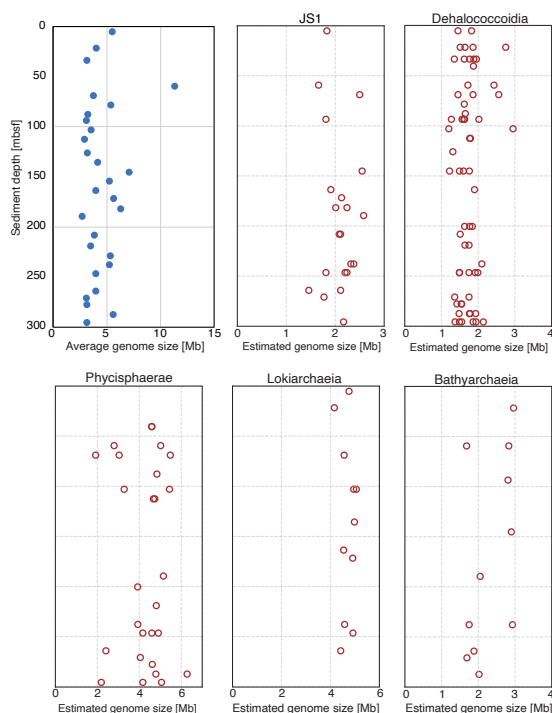


図3 堆積深度に伴うゲノムサイズの変化。(青丸) MicrobeCensus により推定した各試料における微生物群集全体の平均ゲノムサイズを示す。(赤丸) Atribacterota (JS1 クレード)、Dehalococcoidia, Phycisphaerae, Lokiarchaeia, Bathyarchaeia に属する MAG の推定ゲノムサイズを示す。各 MAG のゲノムサイズは、アセンブリ長と完全性に基づいて算出した。

が進行するのではなく、表層で選択されたゲノム特性が埋没後も維持されていることを示唆している。

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 の中川剛史氏にご協力いただきました。サンプルの採取に地球深部探査船「ちきゅう」慣熟航海 (CK-06-06) 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。上記の方々に感謝の意を表します。また、本研究は JSPS 科研費 JP22H00429, JP23K22618 の助成を受けたものです。

文献

- [1] D. E. LaRowe, E. Burwicz, S. Arndt, A. W. Dale, and J. P. Amend, "Temperature and volume of global marine sediments," *Geology*, vol. 45, no. 3, pp. 275-278, Mar. 2017
- [2] H.-C. Flemming and S. Wuertz, "Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms," *Nat Rev Microbiol*, vol. 17, no. 4, pp. 247-260, Apr. 2019
- [3] J. Kallmeyer, R. Pockalny, R. R. Adhikari, D. C. Smith, and S. D'Hondt, "Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 109, no. 40, pp. 16213-16216, Oct. 2012
- [4] R. J. Parkes, B. Cragg, E. Roussel, G. Webster, A. Weightman, and H. Sass, "A review of prokaryotic populations and processes in sub-seafloor sediments, including biosphere:geosphere interactions," *Marine Geology*, vol. 352, pp. 409-425, Jun. 2014
- [5] S. Braun *et al.*, "Microbial turnover times in the deep seabed studied by amino acid racemization modelling," *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, p. 5680, Jul. 2017
- [6] 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
- [7] G. V. Uritskiy, J. DiRuggiero, and J. Taylor, "MetaWRAP—a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis," *Microbiome*, vol. 6, no. 1, p. 158, Dec. 2018
- [8] J. L. Figueroa Iii, E. Dhungel, M. Bellanger, C. R. Brouwer, and R. A. White Iii, "MetaCerberus: distributed highly parallelized HMM-based processing for robust functional annotation across the tree of life," *Bioinformatics*, vol. 40, no. 3, p. btac119, Mar. 2024
- [9] S. J. Giovannoni, J. Cameron Thrash, and B. Temperton, "Implications of streamlining theory for microbial ecology," *The ISME Journal*, vol. 8, no. 8, pp. 1553-1565, Aug. 2014
- [10] S. Nayfach and K. S. Pollard, "Average genome size estimation improves comparative metagenomics and sheds light on the functional ecology of the human microbiome," *Genome Biol*, vol. 16, no. 1, p. 51, Mar. 2015