

地下で発見！ゲノムが膜で包まれたバクテリア —新しい門に分類される常識外れの細菌の培養に成功—

2020 年 12 月 14 日

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

日本電子株式会社

国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST)

■ ポイント ■

- ・ 世界中の地下環境に最も多く生息する「門」レベルで新しい細菌群を世界で初めて培養
- ・ 細菌(原核生物)にも関わらずゲノム DNA が膜で包まれているという、従来の常識を覆す細菌
- ・ 天然ガス田など地下環境でのメタン生成機構の解明や、原核生物の再定義や生物の進化と多様化の理解に迫る重要な成果

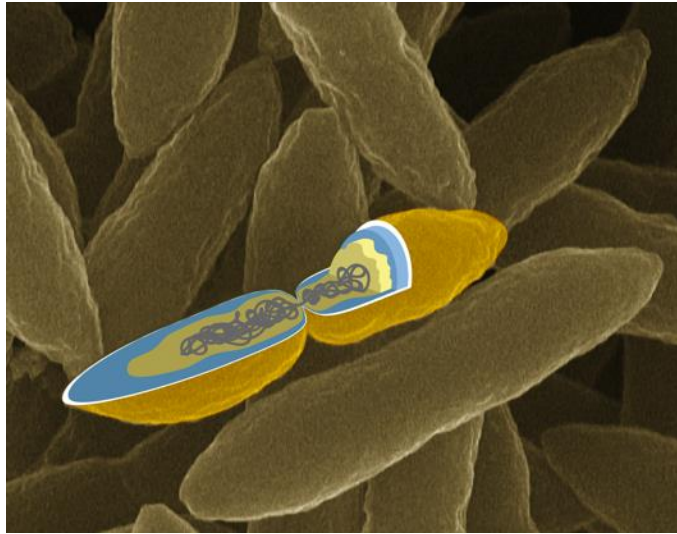
■ 概 要 ■

国立研究開発法人 産業技術総合研究所【理事長 石村 和彦】(以下「産総研」という)地圏資源環境研究部門【研究部門長 光畑 裕司】地圏微生物研究グループ 片山 泰樹 主任研究員、吉岡 秀佳 研究グループ長、生物プロセス研究部門【研究部門長 鈴木 馨】生物資源情報基盤研究グループ Nobu Masaru Konishi (延 優) 研究員、草田 裕之 研究員、孟 憲英 テクニカルスタッフ、鎌形 洋一 招聘研究員、玉木 秀幸 研究グループ長は、日本電子株式会社【代表取締役社長兼 COO 大井 泉】EM 事業ユニット 細木 直樹 主事、株式会社マリン・ワーク・ジャパン【代表取締役社長 杉山 和弘】海洋地球科学部 植松 勝之 専門課長と共同で、天然ガス田などの地下環境でのメタン生成活動に重要な役割を担う細菌(バクテリア)、RT761 株の培養に成功した。この菌株は一般的な細菌とは細胞の構造が根本的に異なり遺伝情報を持つゲノム DNA が細胞内で「膜」に覆われていた。また、RT761 株が最も上位の分類階級にあたる「門」レベルで新しい細菌種であることを証明し、この菌株を代表とした新しい門を *Atribacterota*(アトリバクテロータ)、この菌株を新種 *Atribacter laminatus*(アトリバクター ラミナタス)とする新学名を提案した。

生物は“原核”生物(例:大腸菌や乳酸菌などの細菌)と“真核”生物(例:ヒト、動植物、カビなど)の 2 つに大別される。両者の決定的な違いの 1 つはゲノム DNA が細胞内で膜(核膜)に包まれているかどうかであり、原核生物で核膜を持ったものは発見されていなかった。しかし、今回、培養した *A. laminatus* RT761 株は、本来、原核生物が持つはずのない「ゲノム DNA を包む細胞内膜」を持っていた。原核生物の根源的な特徴を改めて見直し、その再定義を迫る可能性を示す。また、この菌株を代表とする新たな門 *Atribacterota* は世界中のメタンが賦存する地下環境(天然ガス田やメタンハイドレートなど)に広く生息する細菌グループの 1 つであることから、地下環境で見られる活発なメタン生成活動に果たす地下微生物の実態や役割の解明への貢献が期待される。

なお、この成果は 2020 年 12 月 14 日(英国時間)、*Nature Communications* 誌に掲載される。

_____は【用語の説明】参照



新しい門の細菌 *Atribacter laminatus* RT761 株

顕微鏡観察に基づいてイラスト化した分裂中の RT761 株の細胞内構造。ゲノム DNA(灰色線)が細胞内膜(クリーム色)に包まれている。

■ 開発の社会的背景 ■

微生物は肉眼では見えないほど小さいため、ある微生物種の性質を知るには実験室で培養し増殖させるのが一般的である。ところが、地球上のさまざまな環境に生息する微生物の大部分は、人工的に培養して増殖させることができない。培養を介さずに環境から直接遺伝子を解析すると、培養可能な既知の菌種とは異なる種が実に多様に存在している。これら未知・未培養の微生物を培養し、性質を知ることができれば、地球の営みを支える環境微生物の活動を理解し、ひいては、地球環境の保全や地球資源の安全で効率的な利用に貢献できる。

天然ガスの主成分であるメタンの一部は地下微生物によるメタン生成活動によって生成されたと考えられており、地下環境での微生物活動の理解は、天然ガス資源の効率的な利用や資源量の正確な評価につながる。さらに、多様な未培養の微生物が存在する地下環境は、新たな微生物資源の開拓の格好の場である。

■ 研究の経緯 ■

産総研では、地質調査総合センターと生命工学領域による分野融合研究として、天然ガス田や油田などの地下環境を対象に、そこに生息する微生物活動の解明を目指している。千葉県に分布する南関東ガス田には、地下の微生物の活動によって生成されたメタンが大量に賦存しており、天然ガスとして生活を支えている。その効率的な利用の面から重要な研究対象である。今回、この分野融合研究を通して培ってきた培養技術や知識、経験、ノウハウを活用し、南関東ガス田の地層水と堆積物試料から細菌を分離、培養することに取り組んだ。

なお、本研究の一部は、文部科学省 科学研究費補助金(JP17K15183、JP18H05295、JP18H02426)、国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST)ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト」(JPMJER1502)の支援を受けて実施した。

■ 研究の内容 ■

今回、南関東ガス田の地層水と堆積物試料から 5 年の歳月を費やして新しい門に分類される新種の細菌、RT761 株を分離、培養した。門は細菌の分類階級の中で最上位にあたることから、同菌株の新規性は極めて高く、分類学上重要な成果と言える。また、これまで RT761 株やその近縁種は深海堆積物や温泉、油田、メタン発酵槽など酸素の無い環境から、遺伝子情報としてだけ、その存在が広く見つかった。特に、メタンハイドレートが分布する深海底の堆積物ではその環境を代表する未培養の細菌種として見つかり、この細菌グループがメタンハイドレートや地下の天然ガス資源の成因に果たす役割の解明に高い関心が集まっていた。

透過型電子顕微鏡を用いて RT761 株の細胞内構造を観察したところ、グラム陰性菌と同じ細胞膜構造(外膜と細胞膜)に加え、細胞内にもう 1 つ別の膜がゲノム DNA を覆う形で存在していた(図1)。蛍光顕微鏡イメージング技術により細胞分裂中(図2A)のゲノム DNA の局在性を調べた結果、2つに分かれたゲノム DNA(図2B、青)は共に細胞内の膜(図2B、赤)によって覆われていることが明らかとなった。真核生物の特徴とも言える「ゲノム DNA を包む細胞内膜」が原核生物である RT761 株の細胞で観察されたことは非常に驚くべき結果であった。

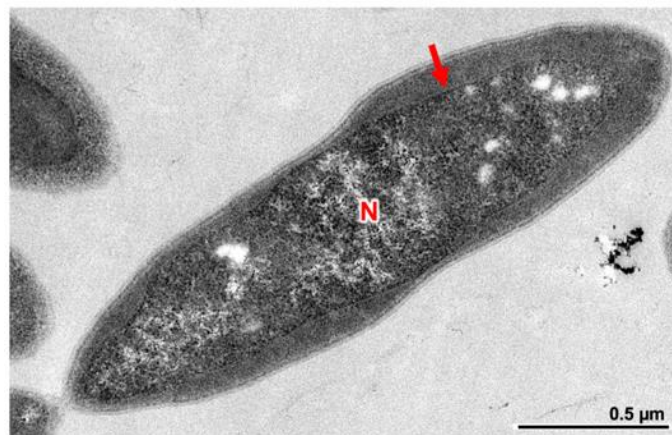


図1 RT761 株の細胞の内部構造

細胞内膜(矢印)がゲノム DNA(N)を包んでいる。

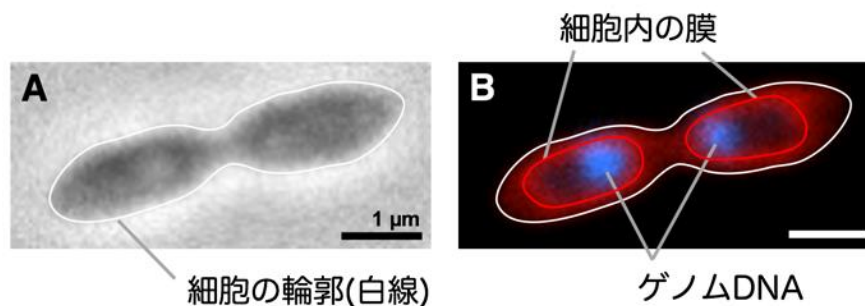


図2 RT761 株の細胞に局在するゲノム DNA

(A)分裂中の細胞。細胞膜の位置に相当する細胞の輪郭を白線で示した。(B)脂質で構成される膜(赤; 輪郭を赤線で示す)とゲノム DNA(青)を染色した(A)の細胞。

細胞内の膜構造をさらに詳細に観察するため、日本電子株式会社の電界放出形クライオ電子顕微鏡 (CRYO ARM™ 300) を用い、世界最高レベルの分解能で自然状態に近い細胞を観察し、立体的に可視化したところ、RT761 株は独立した 3 つの膜を持つことが確認された(図3)。遺伝情報を分配するゲノム DNA の複製が細胞内の局所空間で行われている点や、DNA 複製の場とは物理的に区切られた別の空間でも生命活動を駆動するタンパク質が合成されている可能性など、生命活動の根本的なあり方が既知の細菌とは異なる可能性が高い。細菌を含む原核生物の細胞構造・機能の組織化や細胞の進化を理解する上でも興味深い発見である。

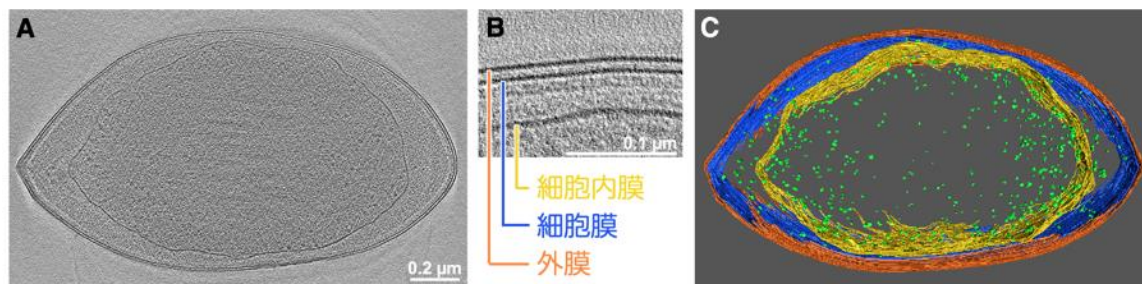


図3 RT761 株の細胞の膜構造

(A) RT761 株の細胞内構造。(B) 膜構造の拡大写真。(C) (A)の細胞をさまざまな角度から撮影し復元した立体構造。細胞内膜(黄)、細胞膜(青)、外膜(橙)、リボソーム様粒子(緑)。リボソーム様粒子は細胞内膜の内側と外側の両方に観察された。

ユニークな細胞構造の他にも、RT761 株は地下の有機物を分解してメタン生成菌に水素を供給する能力を持つことが分かった。これは RT761 株が代表する新しい門に分類される細菌が地下の天然ガス資源を形成する過程で重要な役割を担っていることを示している。

今回、RT761 株を培養したことで初めて明らかになったユニークな細胞構造に因んで、「層状」を意味するラテン語「laminatus」を含め、正式な学名 *Atribacterota* (アトリバクテロータ) 門を命名提案するとともに、*Atribacterota* 門を代表する標準細菌株 RT761 を新属新種 *Atribacter laminatus* (アトリバクター ラミナタス) として提案した。これで、産総研が新たな門とそれに分類される細菌を命名提案するのは 3 例目となる(1 例目: 2003 年 11 月 10 日産総研プレス発表、2 例目: 2011 年 6 月 1 日産総研プレス発表)。

■ 今後の予定 ■

今回の知見をもとに、*Atribacterota* 門の細菌が深部地下環境で実際にどのような活動を行っているのか、メタン生成プロセスに果たす役割の解明を含めてその詳細を明らかにする。また、細菌の進化の早い段階で分岐した *Atribacterota* 門がユニークな細胞構造を持つに至った進化的な道筋の解明にも取り組む。

■ 本件問い合わせ先 ■

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

地質調査総合センター 地圏資源環境研究部門 地圏微生物研究グループ

主任研究員 片山 泰樹 〒305-8567 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 7

TEL:029-849-1537 FAX:029-862-6048

E-mail:katayama.t[at]aist.go.jp

生物プロセス研究部門 生物資源情報基盤研究グループ

研究員 延 優 〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6

TEL:029-861-3560 FAX:029-861-6587

E-mail:m.nobu[at]aist.go.jp

生物プロセス研究部門 生物資源情報基盤研究グループ

研究グループ長 玉木 秀幸 〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6

TEL:029-861-6592 FAX:029-861-6587

E-mail:tamaki-hideyuki[at]aist.go.jp

【取材に関する窓口】

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 広報部 報道室

〒305-8560 茨城県つくば市梅園 1-1-1 中央第 1

つくば本部・情報技術共同研究棟 9F

TEL:029-862-6216 FAX:029-862-6212 E-mail:hodo-ml[at]aist.go.jp

日本電子株式会社

経営戦略室 コーポレートコミュニケーション室 広報・ブランドグループ

〒196-8558 東京都昭島市武蔵野 3-1-2

TEL:042-542-2106 FAX:042-546-9732 E-mail:ir[at]jeol.co.jp

国立研究開発法人 科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3

TEL:03-5214-8404 FAX:03-5214-8432 E-mail:jstkoho[at]jst.go.jp

【JST 事業に関すること】

内田 信裕

国立研究開発法人 科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K's 五番町

TEL:03-3512-3528 FAX:03-3222-2068 E-mail:eratowww[at]jst.go.jp

【用語の説明】

◆門(phylum)

生物分類における分類階級の1つ。細菌の分類階級は高いものから、門、綱、目、科、属、種となっている。最も高い分類階級の門で細菌種を分類すると、33 門に分けられる。これ以外にも、培養株が存在せず、環境から直接得られた遺伝子配列だけで系統学的に認知されている「候補門」が 78 門も存在する (Genome Taxonomy Database , <https://gtdb.ecogenomic.org/>)。培養できないため、性質はほとんど未知であり、種が定義されていない。今回培養できた RT761 株は *Atribacteria* (アトリバクテリア) という暫定的な学名の付いた候補門に属しており、今回 *Atribacterota* という正式な学名を提案した。

◆原核生物・真核生物

生物は原核生物と真核生物に大別される。原核生物には細菌と古細菌が含まれる。原核生物の細胞は遺伝情報を保持する DNA が膜(核膜)に覆われておらず、細胞内にそのまま存在する。一方、ヒトを含む真核生物の細胞の DNA は核という構造体の中に存在し、2重の膜(核膜)に覆われている。核以外にも、エネルギーを生産する場となるミトコンドリアなど、さまざまな細胞小器官を持ち、複雑な構造になっている。

◆メタンハイドレート

天然ガスの主成分であるメタンと水分子からなる氷状の物質をメタンハイドレートと呼ぶ。日本周辺の海域にもメタンハイドレートは大量に存在すると推定されており、エネルギー資源として期待されている。天然ガス田や油田だけでなく、メタンハイドレートにも微生物によって作られたメタンが含まれている。

◆グラム陰性菌

細菌は膜の性質に基づいてグラム陽性菌と陰性菌に大別される。グラム陰性菌はペプチドグリカン層が薄く、その外側に外膜を持つ。一方、グラム陽性菌はペプチドグリカン層が厚く、外膜を持たない。厳密には、グラム染色法で、クリスタルバイオレットによる染色が脱色される細菌と定義される。

◆電界放出形クライオ電子顕微鏡

電界放出形クライオ電子顕微鏡は、急速凍結した細胞や生体分子(細菌、精製タンパク質、ウイルス等)を、凍結状態のまま観察することができる手法および装置である。装置に搭載している電界放出形電子銃により、高い干渉性を有する電子ビームが得られるため、高分解能で高コントラストな透過電子顕微鏡像を観察することが可能である。