

特集2

微生物集団の振る舞いを解明 革新的な制御技術開発に挑む



のむら のぶひこ
野村 暢彦
筑波大学 生命環境系 教授
2015年よりERATO研究総括

私たちの生活に密接に関わる微生物には、まだ多くの謎が残されている。その1つが、単細胞である微生物が集団になると、互いにコミュニケーションを取って多細胞生物のような振る舞いを見せることだ。この振る舞いを解明したのが、筑波大学生命環境系の野村暢彦教授率いるERATO野村集団微生物制御プロジェクトだ。微生物とその周囲の環境や他の生物との関係性を明らかにし、革新的な集団微生物の制御技術を生み出すことを目指している。

人の体内に100兆個も生息 99%は培養できず未解明

微生物とは、細菌、菌類、微細藻類、原生動物などを指す言葉だ。それぞれは肉眼で見ることができないほど小さいが、土の中や水の中、動物の体の中などどこにでも存在している。動

植物が存在する環境の土1グラム中には10億個の微生物が生存しており、動物、植物、微生物がそれぞれに持つ炭素量を基準に比較すると、地球上では植物に次いで大きな割合を占める(図1)。ERATO野村集団微生物制御プロジェクトの研究総括である筑波大学生命環境系の野村暢彦教授

は「人の細胞が37兆個に対して、体内に生息する微生物の数は40兆個とも100兆個ともいわれています。まるで人が微生物の乗り物のようにも見えます」と語る。

微生物は周辺の生き物と相互作用し、自然界で重要な働きを担う。植物の根に住み着いて大気中の窒素から

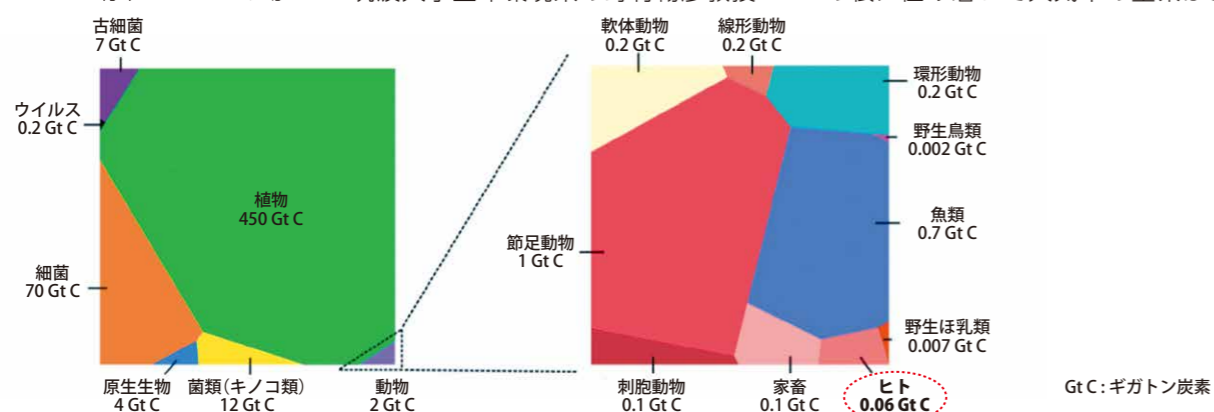


図1 地球上の生命体を炭素量(推定値)で表した分布図。動物より微生物の方がはるかに多いことがわかる。出典: PNAS June 19, 2018 115 (25) 6506-6511

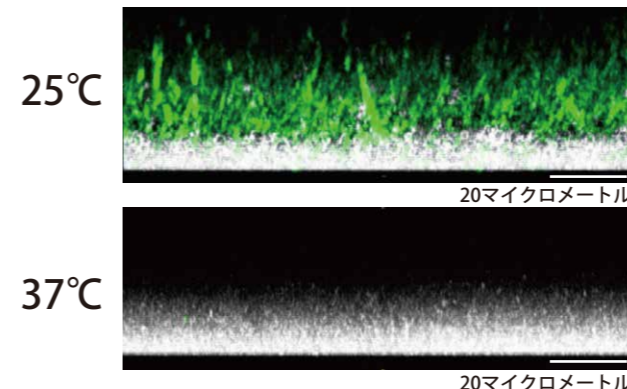


図2 ウェルシュ菌のバイオフィルム中の細胞の分布を共焦点レーザー顕微鏡で観察すると、種類の異なる細胞が分布している様子がよく分かる。25度で生育するとバイオフィルムを生産する細胞(緑)が生産しない細胞(白)の表面を覆うように分布していた。出典: npj Biofilms Microbiomes 2020, 6, 29

植物の生育に欠かせないアンモニアを作ったり、動植物の死骸を分解するのも微生物の働きによるものだ。人も発酵食品や抗生物質、下水処理など多くの分野で微生物を利用してきた。「これまでに研究されてきた微生物は全体の1パーセントに過ぎません。99パーセントは人間が培養できないために、研究できずにいます。微生物のことはまだ何も分かっていないに等しいのです」と現状を分析する。

相互作用でうまく役割分担 「映画のように理解したい」

微生物は単細胞だが、「バイオフィル

ム」と呼ばれる細胞集団を形成する。台所のぬめりや歯垢、納豆のネバネバなど、日常でも目にする機会が多い。「微生物が集団で生活している意味やその中での相互作用があるはず」と微生物を集団で捉える重要性を野村さんは強調する。実際に最近の研究では、自然界に広く分布し食中毒の原因にもなるウェルシュ菌が集団でいるとバイオフィルムを作るのに必要なたんぱく質を生産する菌と、しない菌に分かれるという(図2)。「動物の集団ではよく知られていますが、微生物でも役割分担が行われています。また役割が偏らないよう全体でバランスもとっています。微生物にも個性があるので

す」と生態を語る。

これまで同じ集団にいる微生物は均質だと考え研究が進められてきたが、個々の微生物の個性を捉えなければ、集団の状態も理解することができない。新しいものを見ようとするれば、研究手法を変えなければならない。「これまでよく使われてきたゲノム解析は映画のエンドロールのようなものです。誰が出演したかは分かりますが、どう演じたかの情報はありません。このプロジェクトでは映画を1本通して見るように、微生物を理解したいのです」と新たな解析手法の必要性を語る。

生きた細胞を顕微鏡で評価 誰でも使える手法にし普及へ

新たな手法の開発を担ったのは、シミュレーショングループを率いる筑波大学生命環境系の八幡穂卓越研究員助教だ。これまで細胞の性質の診断や評価を行うには、細胞を染色したり蛍光たんぱく質を生産するように遺伝子を組み換えたりといった前処理を施して、観察しやすくする必要があった。しかし手間がかかる上に、これらの前処理に適さない細胞や機器もあるといった問題もあった。

一方であらゆる細胞には、元々、光に反応して自然に蛍光を放出する自家蛍光とよばれる性質がある。当時使用していた高性能の顕微鏡で自家蛍光も観測できたことから、細胞の内部まで観察できる共焦点反射顕微鏡技術との併用を思いついたという。当初は観察にもデータ処理にも時間がかかり、



やわた ゆたか
八幡 穂
筑波大学 生命環境系 卓越研究員助教
2017年よりERATOグループリーダー

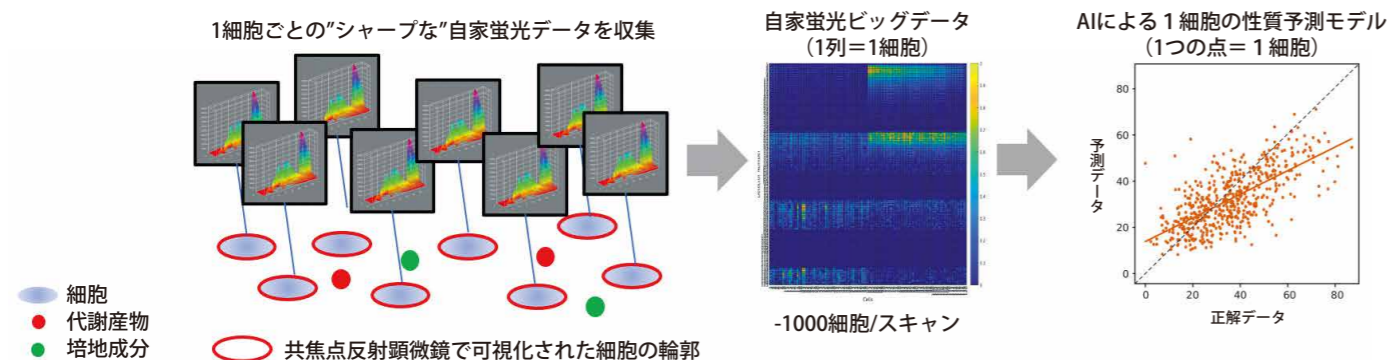


図3 1細胞自家蛍光分析技術(Yawata et al. 2018 AEM, Hirayama et al. 2019 JoVE)は細胞集団を顕微鏡で立体スキャンし、どのような自家蛍光シグネチャーを持った細胞が3次元空間のどの座標に存在するかをマッピングしてデータベース化することができるだけでなく、これに基づいて個々の細胞の性質を予測することができる。

1枚の画像を得るのに1週間かかることも珍しくなかった。「時間はかかりましたが得られた画像がとてもきれいで楽しんで作業していました。学生時代に導入されたばかりの顕微鏡で設定を変えてはいろいろ試して観察していたことが生きています」と探究心の中に遊び心もぞかせる。

その後、人工知能による画像処理技術も格段に向上し、データ処理速度が向上したことで、八幡さんは「1細胞自家蛍光分析技術」を確立した。「この手法を使えば培養や染色の必要も無く、細胞を壊さずに生きたまま、ある細胞が健康か、老化しているか、有用な物質を生産しそうかなどさまざまな情報を評価できます。集団になった微生物

でも1細胞単位で細胞内部の情報や断面を見ることができるとその特徴を説明する(図3)。八幡さんの技術は微生物だけでなく植物や動物の細胞評価や品質管理にも利用が期待されており、今後は誰でも使える技術として広く普及するための標準化や自家蛍光データのデータベース構築にも取り組んでいく考えだ。

情報伝達物質を使い分ける菌 目指す相手に「手紙」届ける

微生物が互いにコミュニケーションを取ることは以前から知られている。イカの器官に生息する発光バクテリアは、一定量以上の集団にならない

と光らないが、少量であっても発光時に多く分泌されていたアシル化ホモセリンラクトンという物質を加えると、発光することを確かめた実験がきっかけだ。その後もほかの微生物で似たような骨格を持つ化合物によって、活動が制御されていることが明らかになってきた。

微生物同士のコミュニケーションには、情報を伝達するシグナル物質を使い分ける菌もいる。自然界に広く分布する緑膿菌はシグナル物質を少なくとも3つ以上使い分け、200以上の遺伝子を微生物間コミュニケーションによって制御しているという。バイオフィームを作る時にも、仲間とコミュニケーションを取りながら、周辺環境に応じたバイオフィーム構造を形成していく。「微生物のコミュニケーションを会話にたとえるなら、緑膿菌はメッセージを届けたい相手や内容によって言葉を使い分けるマルチリンガルです」と野村さんは微生物の巧みな戦略に舌を巻く。

微生物間相互作用グループを率いる筑波大学生命環境系の豊福雅典准教授は、微生物研究の中で発見されたもののまだ役割がはっきりしない物質が、情報伝達の使い分けに関与していると考えた。「メンブレンベシクル」(MV)もその1つで、数10から数100ナノメートルの細胞膜に包まれたカプセルのような構造をしている。微生物から放出されることは分かっていたが、長らく役割は不明のままだった。

微生物を観察し続けた豊福さんは「グラム陰性細菌とグラム陽性細菌という細胞外皮構造の違う菌がMVを作る様子を動画で撮影することができま



図4 グラム陰性菌は集団の一部が破裂したかから再利用してMVが作られる(左)。グラム陽性菌は細胞壁に小さな穴が空き、中身がシャボン玉のように外に膨らんでMVができる(右)。出展:Nature Communications volume 7, Article number: 11220 (2016) ,Nature Communications volume 8, Article number: 481 (2017)

した。細胞構造が異なるにも関わらず、共通の因子がMV形成に関わっていると分かり驚きました」と振り返る(図4)。さらにMVが細胞外に放出された後、漂いながら付着したり融合したりする相手を選んでいることや、シグナル物質や遺伝子を輸送したり、毒素を輸送したりする多彩な働きを担っていることも豊福さんは明らかにしていった。

カプセル構造を持つことから内部に蓄えられた物質を長時間維持でき、遠くの微生物にも届けることができるという。近年の研究では、湖沼や海にもMVが漂っているという報告もある。野村さんは「イカの発光で見つかったアシル化ホモセリンラクトンのような物質は、ある一定の距離にいる相手に情報を伝える会話のようなものです。一方、MVは目指した相手にだけ届く手紙です。手紙がどのように受け取られて、ど

のように読まれるのかを解明するのが今後の課題です」と次を見据える。

秋にアジア初の国際学会開催 地球規模課題の解決につなぐ

これらの成果は微生物集団を制御するための基盤技術の確立に大きく貢献できた、と胸を張る野村さん。「2018年に微生物サステナビリティ研究センター(MiCS)を筑波大学に設置し、プロジェクト終了後も、研究を継続する体制が整いつつあります。知見もノウハウも蓄積してきましたから、学内だけでなく、学外や企業の研究者も利用できるようにし、研究の裾野を広げます」と展望を語る。MVは情報伝達以外にも細胞表面を攻撃するウイルスや薬剤のおとりになって細胞を守る働きや、免疫機能に係る抗原を運ぶ役割があることも分

かり、ワクチン開発への応用も期待される。八幡さんが確立した1細胞自家蛍光分析技術も、発酵や醸造の品質管理への応用にに向けた共同研究が進んでいる。

21年の秋には欧州分子生物学機構(EMBO)のMVに関する国際学会が日本で初めて開催される予定だ。欧州が拠点となる学会の会合にもかかわらず、第1回をアジアで行うのは珍しい。生物の教科書をも書き換える野村さんらの成果に、世界から注目が集まっていると同時に、日本がこの分野を牽引していくことへの期待がうかがえる。「人や動物、植物と密接に関わる微生物をより深く広く理解できれば、環境、食料、医療などあらゆる分野で課題解決の糸口が見えるはずだ」と力強く語る(図5)。野村さんは小さな微生物が生み出すイノベーションを、地球規模課題の解決へとつなげていく。



図5 発酵や醸造、医療などに微生物を利用し人類は発展してきた。微生物との関わりから地球規模課題を捉え直し、解決への糸口を探る研究が続く。