

# 共生微生物間のケミカルコミュニケーションの解明

研究代表者 町田 光史  
(理工学術院総合研究所 次席研究員)

## 1. 研究課題

ほとんどの環境微生物は難培養性であり、培養によってその全容を明らかにできない時代が長く続いてきた。しかしながら、微生物の培養を必要としない次世代シーケンサーによる遺伝子解析技術により、それら難培養性微生物の多様性が示されるようになった。(Rappé and Giovannoni, 2003; Handelsman, 2004; Keller and Zengler, 2004)。多様な未利用難培養性微生物を培養可能にするための技術開発は、微生物学の大きな課題として関心を集めている。

伝統的な培養手法において、寒天平板上に出現するコロニーの数が環境中に存在する細菌数と比べて極めて少ないことが知られ、この現象は” Great Plate Count Anomaly (平板菌数の異常)” と呼ばれている (Staley and Konopka, 1985; Amann et al., 1995)。この問題を解決するために、微生物を物理的に分離する手法や、代替のゲル化剤または抗酸化物質を用いる手法、シグナル分子添加や他の微生物との共培養などによる新しい培養手法が試みられてきたが、依然として環境中のほとんどの微生物は未培養のままである。

先行研究では、生きていますが培養不可の状態 (VBNC)、ほぼ増殖しない状態 (NZG)、休眠状態など、様々な微生物の非増殖状態が報告されており (Lennon and Jones, 2011; Panikov et al., 2015; Pinto et al., 2015)、環境中に共生する微生物間でこれらの非増殖状態から目覚めさせるような化合物が利用されている可能性が示唆されている。一方、代表者がこれまで行ってきた研究では、海綿から医薬・試薬のシード化合物になる二次代謝産物を得ているが、これらの二次代謝産物の真の生産者は難培養性の海綿内微生物であることが示唆されている (Piel, J. et al. 2004)。そこで、二次代謝産物こそ微生物を目覚めさせる覚醒因子候補であると仮説を立て、培養抽出物を利用し微生物を分離培養可能とする手法や覚醒因子の探索を行った。

## 2. 主な研究成果

このような背景のもと、これまで難培養性微生物であった亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* に着目した。硝化細菌である *Nitrospira* は、生物学的窒素循環において重要な役割を担っており、無機炭素を同化し、有機炭素化合物を微生物生態系に放出する。また、環境中において硝化細菌と共存する従属栄養生物の増殖は、これら有機物に完全に依存していることはよく知られているが、硝化細菌が従属栄養生物からどのような利益を得ているのかはいまだ不明のままである。そこで、純粋培養された *Nitrospira* と従属栄養細菌 84 株を用いて、*Nitrospira* の生育促進活性を調べたところ、従属栄養細菌 15 株の培養液について生育促進活性が認めら

れた。*Nitrospira* の培養液を用いて従属栄養細菌の培養を行い、培養液中の化合物プロファイル LC-MS 分析したところ、いくつかの有機化合物が従属栄養細菌に消費されていることが確認できた。また、これら従属栄養細菌の培養液を用いて *Nitrospira* を培養し、培地中の化合物プロファイルを LC-MS 分析したところ、生育促進活性がみられた従属栄養細菌に特徴的な MS シグナルが認められ、*Nitrospira* が従属栄養細菌から生育促進因子を享受していることを示唆する結果が得られた。(研究業績 4.1)

### 3. 共同研究者

中尾 洋一 (先進理工学部・化学・生命化学科・教授)  
青井 議輝 (広島大学・大学院統合生命科学研究科・准教授)  
家入 裕也 (理工学術院・特別研究員)

### 4. 研究業績

#### 4.1 学術論文

Chiho Murakami; Koshi Machida; Yoichi Nakao; Tomonori Kindaichi; Akiyoshi Ohashi; Yoshiteru Aoi Mutualistic relationship between *Nitrospira* and concomitant heterotrophs *Environmental Microbiology Reports*. **14**, 130-137 (2021)

Dawoon Jung; Koshi Machida; Yoichi Nakao; Tomonori Kindaichi; Akiyoshi Ohashi; Yoshiteru Aoi Triggering Growth via Growth Initiation Factors in Nature: A Putative Mechanism for in situ Cultivation of Previously Uncultivated Microorganisms *Front. Microbiol.* **12**, 53 (2021)

#### 4.2 総説・著書

特になし

#### 4.3 招待講演

特になし

#### 4.4 受賞・表彰

特になし

#### 4.5 学会および社会的活動

化学 A 経営 講師担当  
理工学基礎実験 1A、1B 講義担当  
水中科学協会 JAUS ワークショップにて発表

### 5. 研究活動の課題と展望

研究室の火災により、研究室の立て直しに時間を大きく割かれた年であった。まずは、研究環境を以前の状態に完全復帰させることが重要である。海綿由来微生物の培養株については、この火災の影響により大部分を失ってしまったため、再び海綿を採集し、これまでに開発した海綿内での *in situ* 培養法 (Diffusion chamber 法) を用いて、菌株を確保していく予定である。また、文部科学省海洋資源利用促進技術開発プログラム海洋生物ビッグデータ活用技術高度化で採択された研究課題である「海綿を指標生物とした新たな海中環境変化モニタリング技術の開発」をすすめていく予定である。