

未利用な海綿内共生微生物の増殖開始活性物質の探索

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

自然環境中の微生物の多くは、実験室での標準培養では増殖できないことが知られており、海綿関連微生物も例外ではない。それらの存在は、微生物は次世代シーケンサーによる遺伝子解析技術によって示され、微生物会において微生物ダークマターと呼ばれている (Rinke et al., 2013)。未培養微生物の割合に議論が残るものの、これら微生物種は多様性が高いことが示されている。この難培養性の改善は、天然物探索研究に探索源拡大に寄与し、その重要性はますます高くなってきている。

先行研究では、生きているが培養不可の状態 (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。本研究では、これまで海綿内の微生物について休眠・覚醒について調べてきた。また、実際生息環境中での微生物がどのように増減しているのか調査を行った。

2. 主な研究成果

このような背景のもと、海綿に連続フローバイオリアクター (CF) 培養と I-tip 培養を適用し、それぞれ分離株 60 株を得た。また、同じサンプルを標準寒天培地 (SDP) をもちいて培養した分離株を 60 株得た。これら分離株の際菌種を調べたところ、CF、I-tip、SDP から分離された際菌種の Shannon-Weaver 多様性指数は、それぞれ 21.9、19.1、10.8 であったことから、CF と I-tip の培養法では、SDP 培養で得られた分離株よりも、種レベルで多様性が高いことが示された。また、3つの培養兵法に共通する種はほとんど認められなかった。元の海綿内の微生物叢を、16S rRNA 遺伝子に基づいた Illumina-MiSeq シーケンスによって分析したところ、*Acidobacteria*、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes*、*Chlamydiae*、*Chloroflexi*、*Cyanobacteria*、*Firmicutes*、*Nitrospirae*、*Planctomycetes*、*Alpha-*、*Beta-*、*Delta-*、*Epsilon-*、*Gammaproteobacteria*、*Spirochaetes* そして *Verrucomicrobia* の計 16 種で構成されていた。これらのうち、本手法らで培養できたのは、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Alpha-* として

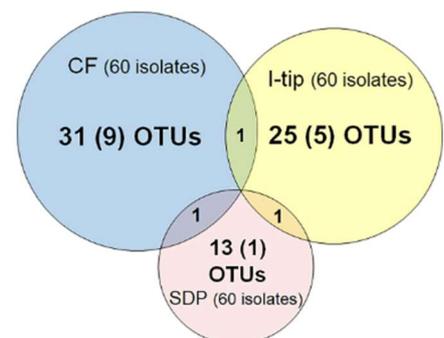


図1. 3つの異なる培養方法を用いて得られた細菌種数とその重複

*Gammaproteobacteria*であった。次に、CF、I-tip、およびSDP株について、海綿抽出物がコロニー形成数に及ぼす影響を調べた結果、SDP株では海綿抽出物によるコロニー形成率の増加は観察されなかった。一方I-tip株では海綿抽出物によってコロニー形成率が向上するものが多く、5倍以上のコロニー形成率を示した分離株が2つあった。このことから、海綿抽出物には、細菌の増殖に影響するような化合物が含まれていることが示唆された。

3. 共同研究者

中尾 洋一（先進理工学部・化学・化生命科・教授）

中山 二郎（九州大学・農学研究院・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（情報生産システム研究科・講師（任期付））

4. 研究業績

4.1 学術論文

Dawoon Jung, Koshi Machida, Yoichi Nakao, Jeffrey S. Owen, Shan He, Tomonori Kindaichi, Akiyoshi Ohashi, Yoshiteru Aoi Cultivation of previously uncultured sponge-associated bacteria using advanced cultivation techniques: A perspective on possible key mechanisms *Front. Mar. Sci.* **9**, 963277(2022).

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

Koshi Machida, Yuta Chiba, and Yoichi Nakao, 「CHANGES OVER TIME OF THE METABOLITE PROFILE IN THE DECAY PROCESS OF A MARINE SPONGE」 IUPAC - ISCNP31 & ICOB112023 (Napoli, Italy, 2023.10)

5. 研究活動の課題と展望

得られた難培養性微生物について、コロニー形成率を向上させる化合物の探索をおこなっていく。本研究は、難培養微生物を培養可能とすることで、学術領域だけでなく医療分野への貢献が期待される。