

早稲田大学 理工学術院／ナノ・ライフ創新研究機構
竹山春子 教授

2007年より現職。昨年国立研究開発法人 産業技術総合研究所と共同で設立された「産総研・早大 生体システムビッグデータ解析オープンイノベーションラボラトリ」のラボ長。東京農工大学工学部客員教授。早稲田大学規範科学総合研究所所長。専門は、海洋生物を対象にしたマリンバイオテクノロジー、微生物工学、生物工学、シングルセル解析など。



技術がサイエンスを深化させる

培養が難しいとされる微生物(バクテリア)のアーカイブを構築し、それらから新しい微生物学、さらには創薬の開発などに結びつけていく、私の研究を端的に言うとこんな感じでしょうか。

そのために必要な技術開発やこの分野では利用されてこなかった技術の積極的な導入を進めています。どのようにして利活用可能な情報を得るか。そのための基本的な技術は3つ、シングルセルゲノム解析とラマン分光解析、そして生命情報解析です。これらを組み合わせ、環境中の未知なる微生物の機能を探り、彼らが作り出す有用物質を効率的にスクリーニングしていきます。培養ができないのであれば、シングルセルレベルで遺伝子情報を取り出すこと、さらには何を作っているかをラマン分光解析によって非破壊で当たりをつけることは重要な技術です。今まで掘り出せなかった宝を生物遺伝資源から見つけ出し、利活用するには新しい技術が必要です。そこから得られる新奇な知見はサイエンス、産業に大きなインパクトを与えると信じています。

あえて、難培養微生物の分析に挑戦する

従来の微生物研究では、海水や土壌などにいるバクテリアを単離・培養し、解析してきました。ただ、この方法では、対象となる微生物に限りががあります。事実、全微生物の1%以下しか培養できないと言われています。つまり、残りの99%は手付かずのまま。これまでに産業に利用可能な酵素や抗生物質など、価値の高い物質は発見されてきまし

たが、科学技術の急速な進歩や超情報化社会を考え、宝の山である残り99%の微生物にスポットを当てることにしました。

スポットの当て方の一つにメタゲノム解析があります。これは、そこにいる微生物をそのまま回収してDNAを抽出し、その遺伝子配列を網羅的に解読して、どんな遺伝子が存在するか、どんな微生物が存在するのかという全体像としてとらえるやり方です。現在、このアプローチが微生物叢解析の主流です。事実、私も10年前には、この手法で解析をしていました。しかしながら、この手法では、どのような微生物がどのような機能遺伝子をもって、その環境に存在するのかは、まったく未知のままに進めることとなり多くの重要な情報を得ることができない、という課題がありました。

微生物を個々のレベルでどのような遺伝子を持っているのかを紐解く必要性を痛感した10年前、そのための手法開発に早速取り掛かりました。紆余曲折の末にたどり着いたのが、シングルセルゲノム解析の武器として考案したマイクロ流体工学技術(マイクロデバイス)を用いたドロップレットの利用です。大きさがマイクロサイズの微生物1つ1つをハンドリングするために、マイクロサイズで、ピコリッター(pL)容量のドロップレットをマイクロデバイス中で高速で作成し、それぞれを反応場として細胞の溶解、ゲノム増幅を行い、その後ゲノム配列決定を次世代シーケンサーを用いて行います。実は、このプロセスにはノウハウが沢山詰まっており、研究室のメンバーが総力を挙げて確立したものです。このような先端的な技術により得られたゲノム配列は、より正確な遺伝子配列にするための情報解析手法が必要で、シングルセルゲノム解析用のツールも開発しました。

最近では、海洋の無脊椎動物内にいる微生物だけでなく様々な動物



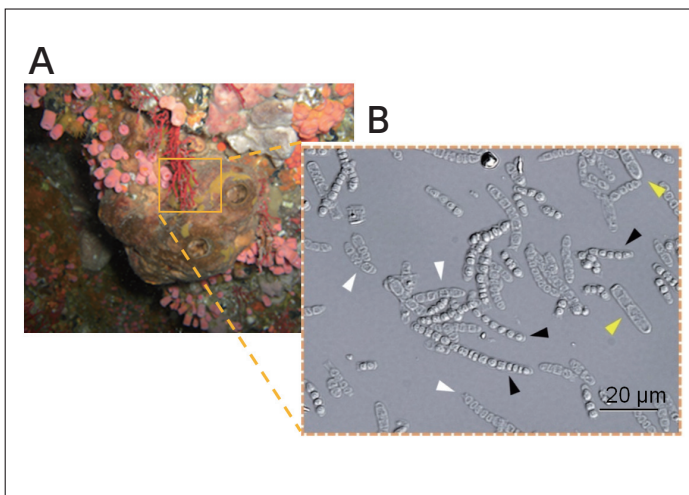
の腸内細菌などもこの手法で解析しています。

ラマン分光法で、 微生物の特性を探求する

創薬につながる天然物の多くが海中にいる無脊椎動物であるカイメンから得られています。カイメンの体の中には非常に沢山の

微生物が存在しており、薬効のある天然物(二次代謝物)の多くがそれらによって生産されていることが明らかになってきています。様々な有用物質が得られても、どの微生物が生産しているのかを見極めるのは非常に困難な状況です。というのも、それらの微生物がやはり難培養であることが多いからです。シングルセルレベルで、代謝産物を可視化できれば生産者の確認、さらにはシングルセルゲノム解析で二次代謝産物の合成遺伝子の解析も可能となります。ここで強力な助っ人技術としてラマン分光を活用しています。

実は、10年以上前に、このラマン分光技術に出会い、とてもエキサイティングしたことを覚えています。それ以来、私の研究室では、微生物が作る二次代謝産物を解析するためにラマン分光法を適用した新しい研究を展開しています。ラマン分光の魅力は、ターゲット物質の特徴的なラマンシグナルを基に、細胞内の分布を可視化することが可能な点です。様々な微生物が混在しているなかから生産者を可視化できた時の驚きとワクワク感が忘れられません。これまで気づけなかった新しい事実を発見する機会も増え、微生物研究の醍醐味を味わっています。



写真A カイメン *Theonella swinhoei*

写真B カイメン内に生息する糸状性細菌

ビックデータ化するゲノム情報

エコシステムにおける微生物の役割は、多階層的な環境情報のネットワークの中で解析されるべきと思っています。ゲノム情報をシングルセルレベルで取得することは、ますます情報がビックデータ化する、さらに環境データのインプットによる複雑化も起こり、今までの生命情報解析を越えるAI技術や機械学習の手法が必要となってくると思っています。無脊椎動物からヒトまで、多くの微生物との共生関係が紐解かれるなか、新しい手法による研究分野が生まれるかもしれません。

参考文献

- [1] Kogawa, M., Hosokawa, M., Nishikawa, Y., Mori, K., Takeyama, H. Obtaining high-quality draft genomes from uncultured microbes by cleaning and co-assembly of single-cell amplified genomes. *Scientific Reports*. 8(1):2059, 2018.
- [2] Hosokawa, M., Nishikawa, Y., Kogawa, M., Takeyama, H. Massively parallel whole genome amplification for single-cell sequencing using droplet microfluidics. *Scientific Reports*. 7(1):5199, 2017
- [3] Maruyama, T., Mori, T., Yamagishi, K., Takeyama, H. SAG-QC: quality control of single amplified genome information by subtracting non-target sequences based on sequence compositions. *BMC Bioinformatics*. 18:152, 2017.
- [4] Miyaoka, R., Hosokawa, M., Ando, M., Mori, T., Hamaguchi, H., Takeyama, H. *In situ* detection of antibiotics amphotericin B produced in *Streptomyces nodosus* using Raman microspectroscopy. *Marine Drugs*. 12(5), 2827-2839, 2014.
- [5] Wilson, MC., Mori, T., Rückert, C., Uria, AR., Takada, K., Gernert, C., Steffens, U., Heycke, N., Schmitt, S., Rinke, C., Gurgui, C., Helf, MJ., Helfrich, EN., Wakimoto, T., Kracht, M., Semeniuk, A., Crüsemann, M., Hentschel, U., Abe, I., Matsunaga, S., Kalinowski, J., Takeyama, H., Piel, J. An environmental bacterial taxon with a large and distinct metabolic repertoire. *Nature*. 506(7491):58-62, 2014.