

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：82706

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H05328・20K20347

研究課題名（和文）地球第三の生態系=電気合成微生物生態系の証明とその生態学的意義の解明

研究課題名（英文）Justification of electrosynthetic microbial ecosystem in natural electrogenic environments

研究代表者

高井 研（Takai, Ken）

国立研究開発法人海洋研究開発機構・超先鋭研究開発部門・部門長

研究者番号：80359166

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、地球電流が遍在する深海熱水域には「化学合成に支えられた暗黒の生態系」とは別の「電気合成に支えられた未明の生態系」が存在する、という作業仮説の検証を目指して、深海熱水域の探査・現場実験、革新的微生物培養技術・マルチオミクス分析を駆使した研究アプローチを展開した。最終的に、深海熱水域に特定の電気合成独立栄養微生物が生息し、その一次生産に支えられた電気合成微生物生態系が存在することを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

約2500年の「生命とは何か」に対する科学的思考や学術的活動の一つの到達点ともいえる「エネルギー獲得からみた生命観」は、10億種を超える地球生命がたった2つのエネルギー獲得システム（光合成とお化学合成）のみに依存していることを示す。しかし、近年の研究によって、新たな生命エネルギー獲得システムである電気合成が存在することが分かりつつあった。しかし自然環境中でそれを証明した研究は皆無であった。本研究は、第三の生命エネルギー獲得システムである電気合成代謝に支えられた微生物生態系が存在することを初めて実証し、約2500年不変であった「エネルギー獲得からみた生命観」を一新する飛躍知をもたらした。

研究成果の概要（英文）：In this research project, we sought to cultivate electrotrophic microbial populations in deep-sea hydrothermal systems, which may represent the most predominant natural electrogenic environments in this planet, and to justify the possible occurrence of electrosynthetic microbial ecosystem, which is a newly proposed mode of microbial ecosystem after previously known chemosynthetic and photosynthetic counterparts. By means of in-situ and laboratory electrochemical cultivations and multiomics techniques, we successfully detected the existence of electrotrophic microbial populations in the deep-sea hydrothermal vent communities and even in the coastal seawater communities, and obtained the their abilities of electrotrophic growths and primary productions.

研究分野：地球生物学

キーワード：電気合成 独立栄養微生物 化学合成 光合成 物質循環

1. 研究開始当初の背景

地球には約 100 億種を超える(微)生物が存在すると推定されている。しかし、その多様な(微)生物のすべての活動が、光合成と化学合成というたった 2 つのエネルギー獲得システムにのみ支えられており、また光が届かない光合成由来の有機物がほとんど供給されない深海や地下といった環境においては、化学合成のみによって支えられた「暗黒の生態系」が存在すると考えられてきた。しかしこれらの概念が今、本研究によって覆されそうとしている。

一つのきっかけは、自然環境中で発生する地球電流による遠隔間接的な酸化還元反応が起きることが明らかになり、そしてこの地球電流を直接的なエネルギー源として生存・増殖可能な電気合成微生物が存在することが予見され、その存在が実験的に示されたことによる。しかしこれまでの研究は細胞内外導電分子を有する既存の化学合成微生物種における通性電気合成代謝・増殖能の確認に過ぎず、地球電流が遍在する環境の微生物生態系から未知の導電分子を想定した直接的かつ網羅的な電気合成微生物の探索研究は皆無であった。

もう一つのきっかけは本研究グループの成果による。本研究グループは深海熱水域が豊富な地球電流を生み出す天然の発電所であること、さらに地球電流の発生が数百 m から数 km の巨大な空間に及ぶこと、を世界で初めて明らかにした。これらの発見によって、深海熱水域における電気合成微生物の生息可能環境や生態学的影響が、細胞内外の化学物質の直接的な酸化還元反応を必要とする化学合成微生物が生息可能な熱水-海水混合域環境やその影響に比べて、桁違いに大きい時間・空間スケールに及んでいる可能性が示された。

以上の背景に基づいて本研究グループは、地球電流が遍在する深海熱水域には、これまでに知られる「化学合成に支えられた暗黒の生態系」を空間・機能的に凌駕する「電気合成に支えられた未明の暗黒の生態系」が存在する、という作業仮説を着想した。

2. 研究の目的

作業仮説の検証に向けて、本研究は、(i)地球電流が遍在する深海熱水域から革新的微生物培養技術を用いて電気合成増殖可能な微生物を培養・分離することによって未知の電気合成微生物とそれに駆動される生態系の存在を証明すること、そして(ii)室内マルチオミクス実験・分析によって特定された代謝・生理・分子機構から電気合成代謝遺伝子・分子マーカーを設計し、現場実験によって電気合成微生物生態系の存在ならびに物質循環への寄与・生態学的意義を明らかにすること、を目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、(i)現場電気培養によって集積に成功している *Thiomicrobacter* 属細菌または新たな深海熱水域調査で集積に成功した電気合成微生物について、顕微鏡観察による電気培養中の代謝活性・細胞分裂イメージングを通じて陽極表面での細胞増殖および代謝をリアルタイムで解析すること、(ii)代謝と増殖が確認された培養液をマイクロマニピュレーションで物理的に回収し、超高感度 UPLC や LC-MS を用いた代謝産物の同定(メタボローム解析)ならびに次世代シーケンサーを用いた極微量でのゲノム・トランスクリプトーム解析による代謝・生理機能の特定を行うこと、(iii)代謝と増殖が確認された細胞を光ピンセットで物理的に回収し、培養を繰り返すことにより電気合成微生物を分離すること、を展開する。さらにマルチオミクス解析によって特定された細胞外電子伝達プロセスの分子機構に対する遺伝子・分子マーカーを作成し、現場電気化学実験と併せた深海熱水域での電気合成微生物群集の時空間分布・一次生産量の定量化を行う。最終的には電気合成微生物生態系の物質循環への寄与・生態学的意義を明らかにすることを目指す。

4. 研究成果

2018 年度には沖縄トラフ伊平屋北熱水域での現場電気培養集積試料を植種源として、通常の微生物燃料電池実験と同様のスケールでの実験室内電気合成微生物培養を行った。その結果かなり良い増殖能を示す電気合成独立微生物候補(*Thiomicrobacter* sp.)の培養に成功した。しかしながら、共存する従属栄養性の微生物を除去することはできず分離には至らなかった。また、同じく沖縄トラフ伊平屋北熱水域で得られた天然の硫化鉄物試料を用いた実験室内電気合成微生物培養を行い、上記同様の電気合成独立微生物候補(*Thiomicrobacter* sp.)の培養に成功した。一方、光ピンセット光学顕微鏡を利用した電気化学ライブイメージング装置を用いて既知の通性電気合成可能な微生物を用いたリアルタイム直接観察法の構築を目指したが、蛍光試薬の発色に関わる技術的問題が生じたため、かなり研究の進展が遅れた。しかし最終的に、その技術的問題点を克服し、電気化学ライブイメージング技術を確立することができた。さらに、沖縄トラフ伊平屋北熱水域での現場電気培養集積試料のゲノム・トランスクリプトーム解析を行い、電気合成独立微生物候補(*Thiomicrobacter* sp.)の電気合成代謝に関わる特殊な分子機構の特定に成功した。

2019年度には、2018年度に引き続き深海熱水域からの電気合成微生物の培養・分離を進めた。しかしながら、電気合成独立微生物候補(*Thiomicrospira* sp.)の実験室内電気培養は可能ではあるものの分離に至ることはできなかった。一方2019年度には、深海熱水域をはじめとする現場環境での効率的な電気合成微生物の培養を可能とするスタンドアロン型定電位電極システムを開発し、陸上実験室および沿岸海水での試用を経て、深海熱水域や沿岸海水での実験を開始した。また集積した微生物群集の電気合成活性を検出するマルチオミクス分析手法として、電気化学測定法 Linear Sweep Voltammetry と呼吸活性阻害剤を用いる代謝活性阻害操作を組合わせた電子取り込み活性評価法を確立した。さらに、深海熱水域での電気合成微生物培養予備実験で得られたメタゲノム解析やこれまでの文献情報で得られた知見を基に、電気合成に関わる鍵遺伝子・分子マーカーである膜貫通マルチヘムシトクロムタンパク質を特定した。

2020年度は、世界的な新型コロナウイルス感染症の拡大を受けて、研究進展が大きく遅れることになったが、引き続き深海熱水域および沿岸海水での現場電気集積培養実験を進め、電気合成代謝や一次生産量および採取された様々な試料に対する遺伝子・分子マーカーを用いた自然環境中の電気合成微生物群集の時空間分布の定量化を検討した。特に沿岸海水での実験において電子取り込みを確認した試料について、系時的な微生物群集構造解析を行い、優占する電気合成微生物候補の系統と時系列変遷を明らかにした。

最終的に2021年度には、沖縄トラフ伊平屋北熱水域や沿岸海水で集積された微生物群集に対するマルチオミクス分析結果を取り纏め、電気エネルギーに支えられた特定の微生物種の一次生産と増殖を実証する事に成功した。深海熱水域も沿岸海水の場合も、(1)現場電気培養実験の陽極において微生物増殖に伴う発生電流の増加、(2)電流供給による特定のプロテオバクテリアの特異的集積、(3)その特定プロテオバクテリアのゲノムに膜貫通型マルチヘムシトクロムタンパク質が存在、(4)メタトランスクリプトーム解析による膜貫通型マルチヘムシトクロムタンパク質の過剰発現、が認められ、自然環境中で電気合成独立栄養微生物が存在すること、そして電気合成独立栄養微生物を一次生産者とする電気合成生態系が駆動されている可能性が示された。

以上の結果について、現在2報の論文を投稿中である。最終年度までに論文発表は完了できなかったが、これらの結果を鑑みて、本研究の目標である「自然環境における第三の生命エネルギー獲得システムである電気合成エネルギー代謝に基づく微生物の実証と電気合成生態系の存在可能性の証明」を達成することができたと総括する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Masahiro Yamamoto, Ryuhei Nakamura, Ken Takai	4. 巻 5
2. 論文標題 Deep Sea Hydrothermal Fields as Natural Power Plants	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ChemElectroChem	6. 最初と最後の頁 2162-2166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ce1c.201800394	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本正浩、谷崎明子、津田美和子、高木善弘、高井 研
2. 発表標題 深海熱水発電を利用した電気合成微生物の培養
3. 学会等名 微生物生態学会2018年大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 設楽 真莉子、山本 正浩、谷崎 明子、鹿島 裕之、布浦 拓郎、高井 研
2. 発表標題 深海熱水噴出域から単離したシュワネラ菌の電流生成と電子吸収の研究
3. 学会等名 微生物生態学会2018年大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山本 正浩 (Yamamoto Masahiro) (60435849)	国立研究開発法人海洋研究開発機構・超先鋭研究開発部門(超先鋭研究プログラム)・研究員 (82706)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------