

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：82706

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15024

研究課題名(和文)多様な一酸化炭素酸化菌の探索とその始原的なエネルギー保存様式の網羅的同定

研究課題名(英文) Isolation of diverse carboxydrotrophs and identification of their primordial energy conservation

研究代表者

福山 宥斗 (Fukuyama, Yuto)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・海洋機能利用部門(生命理工学センター)・特任研究員

研究者番号：70880813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：一酸化炭素(CO)は強い還元力を有する有毒ガスである一方、一部の微生物(CO酸化菌)はCOをエネルギー・炭素源として利用可能である。しかし、既知のCO酸化菌の性状解析は限られた系統群の培養株を対象とする研究に留まる。そこで、これらの知見を拡充するため、深海熱水噴出孔をはじめとする多様な環境サンプルを播種源として、気相CO10%雰囲気下で100を超える集積培養系を構築した。さらに、これらから新規に12種のCO酸化菌を純化し、ゲノム解析を行った。加えて、CO酸化菌に対して安定同位体¹³Cをトレーサーとするメタボローム解析を実施し、CO酸化菌の炭素代謝能とアミノ酸生合成経路を明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原子地球において、COは現在より普遍的に利用可能な基質として存在した。加えて、COはエネルギー保存に必須な電子伝達物質(フェレドキシン)を直接還元可能な唯一の気体である。そのため、COの高い還元力をエネルギー源として利用可能なCO代謝は始原的なエネルギー保存様式を持ち合わせると考えられる。以上より、CO代謝を解明することは生物の最終共通祖先の代謝様式を紐解く上で重要な知見の獲得につながると考えられる。また、COは工場の排ガス等にも含まれる。そのため、COを除去あるいは有用物質に変換する微生物触媒としてCO酸化菌を活用することも可能とされており、バイオテクノロジー分野への貢献も期待される。

研究成果の概要(英文)：Carbon monoxide (CO) is a well-known toxic gas for many organisms. However, CO-oxidizing microbes (carboxydrotrophs) can use CO as energy and/or carbon source for their growth. To date, phylogenetically limited carboxydrotrophs has been described. Thus, their CO metabolism to contribute to energy conservation and carbon fixation is still unclear. In this study, we constructed enrichment cultures under 10% CO from various environment, including hydrothermal vent. Next, we performed (meta)genomic analysis to investigate their CO metabolism. In addition, we performed ¹³C tracer-based metabolomics to reveal their carbon fixation and amino acids biosynthesis pathways.

研究分野：微生物学

キーワード：微生物代謝 オミクス解析 一酸化炭素

1. 研究開始当初の背景

一酸化炭素 (CO) は還元的な環境である原子地球において普遍的に利用可能な基質とされ、CO 酸化は始原的なエネルギー保存様式と考えられる。さらに、CO は極めて高い還元力を有し、CO 酸化は微生物が元来有する多様な還元反応と共役可能な特徴を併せ持つ。しかし、既知の CO 酸化菌は分離源や分離株の系統に限られるだけでなく、そのエネルギー代謝も理論的に存在が推定される仕組みの一部に限られる。

CO 酸化菌は、CO 酸化酵素として CO デヒドロゲナーゼ (CO dehydrogenase, CODH) を有する。CO を豊富に含む火山性ガスが供給される熱水環境において、CO 利用能は微生物生態学的なニッチの獲得を意味し、本遺伝子は水平伝播によって微生物間で拡散することが知られる。CO はその高い還元力によって様々な還元反応と共役可能であり、本遺伝子の獲得は、CO 酸化能の付与により微生物が元来有する還元反応と共役し CO 酸化を起点とする新たなエネルギー保存様式を生み出すと考えられる。深海熱水活動域や陸上熱水環境において、始原的な CO 酸化菌あるいは CODH 遺伝子の水平伝播により新規なエネルギー保存様式を獲得した CO 酸化菌が数多く存在すると考えられるが、分離培養法や分離源の偏りにより CO 代謝の網羅的な解明には至っていない。

2. 研究の目的

既知の CO 酸化菌において、その分離源や分離株の系統に限られる原因として、1) 播種源となる環境サンプルがアクセスしやすい陸上熱水環境に由来すること、2) 集積培養系を構築する際に、原始地球でもあり得ない高濃度の CO を添加してきたことが挙げられる。そこで、主な播種源である陸上熱水環境サンプルに加えて、これまでに使用例の少ない深海熱水活動域や海底堆積物など多様な環境サンプルから、低濃度の CO をエネルギー・炭素源として利用する多様な CO 酸化菌を探索しカタログ化することを目的とする。加えて、得られた CO 酸化菌の代謝およびゲノム性状、炭酸固定経路を明らかにすることで、CO 酸化を伴うエネルギー保存様式の網羅的な解明を試みる。

3. 研究の方法

本研究では、CO が普遍的に供給される環境試料として、熱水源の温度や pH の異なる複数地点の陸上熱水環境試料に加えて、深海熱水活動域や海底堆積物由来の試料を対象とした。さらに、硫酸塩や硝酸塩、CO₂ の様々な電子受容体を用いて、低濃度 CO 雰囲気下の集積培養により多様な新規 CO 酸化菌の分離を行った。具体的には、電子受容体を添加した合成培地に環境サンプルを播種し、気相の 10% が CO となるように CO ガスを封入し 60-85 °C で集積培養を行った。目視および顕微鏡観察により CO 酸化菌の増殖が確認された集積培養系において、CO の消費をガスクロマトグラフィーにより確認した。また、CO 消費が認められた集積培養系から DNA を抽出し、優占種の純度を確認するとともにゲノム性状を明らかにした。また、一部の環境サンプルにおいては、合成培地に播種せず、環境サンプルを直上水でスラリー化し、より現場環境に近い状態で上記の実験を行った。

4. 研究成果

静岡県駿河湾沖、神奈川県相模湾沖および初島沖、群馬県草津温泉、北海道油田、沖縄県深海熱水活動域よりサンプリングを行い、採取した堆積物を播種源とした。同時に、温度・pH・ORP 等の環境パラメーターを測定した。気相 CO10% 及び異なる電子受容体 (硫酸塩・硝酸塩・炭酸) を加え、高温帯・中温度帯に設定した培養系に接種し、100 を超える集積培養系の構築に成功した。このうち、ガスクロマトグラフィーにより気相中の CO 消費が認められた培養系に対して DNA 抽出を行い、16S アンプリコン解析およびゲノム解析を行った。優占する CO 酸化菌として、既報の *Archaeoglobus* 属アーキア、*Thermoanaerobacter* 属バクテリア、*Bacillus* 属バクテリア等が確認された。加えて、*Desulfofundulus* 属バクテリアや *Fervidobacterium* 属バクテリア、未培養系統群といったこれまでに CO 利用能が報告されていない分類群が認められた (図 1)。これらの結果は、既知の CO 酸化菌の系統的な偏りは分離培養法や分離源していた可能性を示唆した。さらに、CO 酸化を起点とする未解明の多様なエネルギー保存様式が存在することを示した。

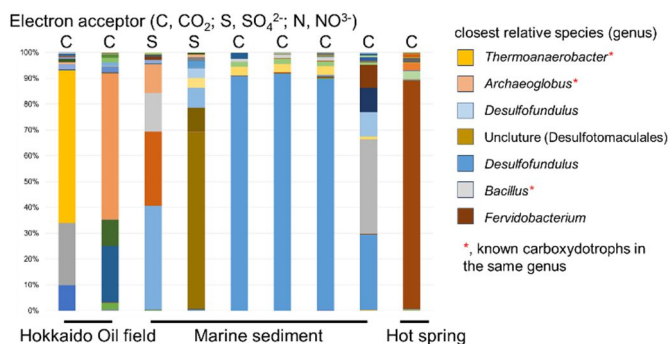


図 1 環境サンプルより構築された低濃度 CO 集積培養系の菌叢

また、沖縄県深海熱水活動域より採取した海底堆積物およびチムニーサンプルに対して、サンプリング箇所の直上水を用いてスラリー化し、低濃度 CO あるいは CO₂ を添加した集積培養系をそれぞれ 20 個構築した。得られた培養系に対して、ガスクロマトグラフィーによる気相分析及びメタゲノム解析を行った(図2)。10%CO を添加した 20 個の集積培養系のうち、8 サンプルで明確な CO 消費が認められた(10 日間の培養で CO 濃度 1%未満)。海底堆積物サンプルから構築した培養系では、Firmicutes 門バクテリアが優先しており、低温環境において孢子を形成して生残していたと考えられた。また、チムニーサンプルから構築した培養系では、Proteobacteria 門バクテリア、Asgard 門アーキアが優占していた。これらには、CO 利用能が報告されていない分類群が含まれており、新規な CO 代謝能の存在が見いだされた。

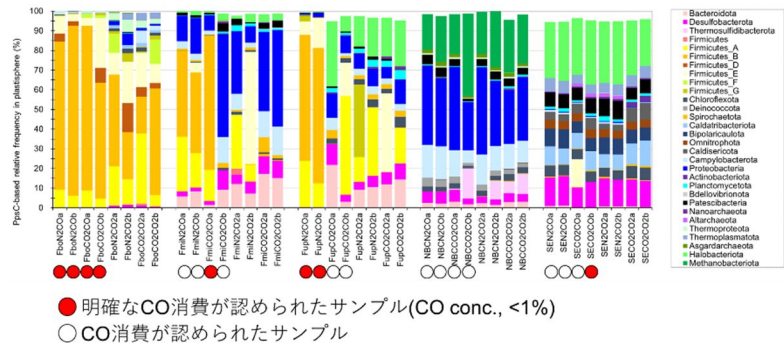


図2 深海熱水活動域より構築された低濃度 CO 集積培養系のメタゲノム解析の結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 福山 宥斗
2. 発表標題 Current view of CO utilizing microorganisms
3. 学会等名 Workshop on Chemical Roots of Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福山 宥斗
2. 発表標題 CO enrichment cultures from diverse environmental samples to isolate novel carboxydrotrophs
3. 学会等名 CO world meeting
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------