

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：63801

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K23766

研究課題名（和文）メタゲノムデータから解き明かす氷河シアノバクテリアの世界的な多様性

研究課題名（英文）Comparative metagenomics reveals the diversity of glacier Cyanobacteria

研究代表者

村上 匠（Murakami, Takumi）

国立遺伝学研究所・情報研究系・特任研究員

研究者番号：00806432

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,800,000円

研究成果の概要（和文）：氷河表面に形成される顆粒状の構造物「クリオコナイト」は、多様な微生物の集合体であり、氷河生態系の基盤を担っている。本研究では世界各地の氷河から得たクリオコナイトのメタゲノムデータを解析することで、クリオコナイト細菌群集構造の広域間での比較を試みた。その結果、主要な一次生産者であるシアノバクテリアをはじめ、クリオコナイトを構成する細菌の系統組成や保有する代謝能が地域ごと、特に極域氷河とアジア山岳氷河とで異なることが初めて明らかとなった。こうした細菌群集の地域的な差異は、各地の氷河環境の違いによってもたらされるものと考えられ、氷河生態系の地球規模での多様性を紐解く上で重要な知見である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

氷河微生物の活動は流域の物質循環や氷河融解にも深く関与しているため、それら氷河微生物の総体である氷河生態系の構造を詳細に理解することは生物学・地球科学的に重要な課題である。本研究によって、様々な代謝能を有した多様な細菌種が世界各地の氷河に分布しており、地域ごとに特色を持った氷河生態系が構築されているということが初めて具体的に示された。これらの成果は、環境と氷河微生物群集の動態を紐づける重要な知見であり、「気候変動によって氷河生態系が今後どう変容し、物質循環や生物多様性がどのような影響を受けるのか」という問いをより詳細に解明していくことに大きく貢献する。

研究成果の概要（英文）：In glacier environments, cryoconite granules, which are aggregates of microbes and minerals, play fundamental roles in glacier ecosystems. In this study, we collected cryoconite samples around the world and conducted comparative metagenomics analyses to investigate the taxonomic and ecological diversities of cryoconite bacterial communities on a global scale. Our study revealed that compositions of bacterial taxa and functional genes of cryoconite bacterial consortia were distinctive among glaciers in different geographical areas, especially between Polar glaciers and Asian high mountain glaciers. These results highlight that microbial ecosystems on glacier vary across the different geographical areas, and imply that assembly of bacterial communities on glaciers were influenced by local glacier environments.

研究分野：環境微生物学

キーワード：氷河生態系 メタゲノム クリオコナイト シアノバクテリア 脱窒

1. 研究開始当初の背景

氷河・氷床は地球上における主要な淡水環境として、極域や高山を中心に世界各地に分布しているが、その表面には多様な微生物や小動物が息している。こうした氷河生物の活動が流域の物質循環や氷河の融解と密接に関与していることが近年明らかになってきており、生物学や地球科学の観点から氷河生物、およびその総体である氷河生態系の調査が進められている。中でも「クリオコナイト」と呼ばれる顆粒状の微生物凝集体は、世界各地の氷河表面で普遍的に見られる物体であり、代表的な氷河微生物群集の一つである。クリオコナイト粒内では、シアノバクテリアなど多様な微生物が、光合成をはじめとする様々な代謝を活発に行っている。多様な微生物と代謝が集約されるクリオコナイトは、氷河環境における生物ホットスポットであり、氷河生態系の基盤を担う存在といえる。したがって、クリオコナイトを構成する微生物の生理・生態を理解することは、氷河生態系構造の全容を把握する上で重要である。しかし、クリオコナイトを構成する微生物について、そのほとんどは未だ培養されておらず、代謝能や生態、系統的多様性に関する詳細の多くは未知であった。また、クリオコナイトを題材とした研究の大半は、研究基盤の整った極域の一地域で実施されたものであったため、世界各地の氷河上に見られるクリオコナイトの性質を包括的に理解しているとは言い難い状況であった。

微生物群集が持つ系統情報や遺伝情報を包括的に解析する手法として、微生物群集総体から DNA を抽出し、網羅的にシーケンシングを行う「メタゲノム解析」が、近年多くの環境微生物群集に対して実施されている。さらに最近では、メタゲノム配列を由来生物種ごとにクラスタリングする「ビニング」と呼ばれる技術が発達を見せしており、メタゲノム配列から群集を構成していた個々の微生物種(特に原核生物)のドラフトゲノム(metagenome-assembled genome, MAG と呼称される)を再構築することも可能となった。こうした最新の環境微生物解析技術をクリオコナイトに対して活用することで、クリオコナイトを構成する微生物の多様性や生態を詳しく見ることができるとは思わないかと考えた。

2. 研究の目的

クリオコナイトを構成する主要な微生物である細菌について、メタゲノム配列から得られる遺伝情報を基に、細菌群集の系統組成や代謝能、さらには個々の細菌種の生態を解明することを目的とした。特に本研究では、単一の氷河由来ではなく、世界各地の様々な地域で収集した試料に対して上記メタゲノム解析を実施し、得られた結果を比較することで、世界中の氷河で見られるクリオコナイトが果たして均一な存在であるのかを世界に先駆けて検証した。こうした比較解析を通じてクリオコナイト細菌群集の多様性を把握し、世界各地に存在する氷河生態系の詳細な構造理解に繋げることを目指した。

3. 研究の方法

共同研究者が本研究開始以前より収集してきたクリオコナイト試料から DNA 抽出を行い、Illumina HiSeq シリーズを中心とした大規模シーケンサーでメタゲノムショートリードを取得した。クリオコナイト試料は両極域(グリーンランド・スヴァールバル諸島・南極半島など)やアジア山岳地帯の氷河(中央アジア・ヒマラヤなど)を含む、世界各地の計 11 氷河 19 地点で収集されたものを用いた。

得られたメタゲノムショートリードをアセンブルしてコンティグを作成するとともに、遺伝子予測を行い、系統情報や遺伝子機能のアノテーションを行った。さらに、作成したコンティグに元のメタゲノムショートリードをマッピングすることで、細菌系統や機能遺伝子の配列量(群集内での相対存在量)を算出し、それをもとに試料間で群集構造比較解析を実施した。一方、ビニングによって各試料からクリオコナイトを構成する細菌種の MAG を構築した。本研究では、クリオコナイト内での主要な一次生産者であり、クリオコナイトの顆粒形成に重要な役割を担っているシアノバクテリアに特に着目し、MAG を元にシアノバクテリアの系統的多様性や地域分布、さらには保有する代謝能を調査した。

4. 研究成果

各試料で取得したメタゲノム配列を元にクリオコナイト細菌群集構造を比較したところ、細菌の系統組成と機能遺伝子組成の双方で、地域間に大きな構造的隔たりがあることが判明した。特に極域の氷河と中央アジアの氷河とで明確な差異が見られた。以下に、見出された主な地域差を述べる。

(1) 脱窒関連遺伝子の地域分布

脱窒は、主に嫌気的な環境下で微生物が呼吸のために硝酸を還元する代謝である。この脱窒を担う一連の関連遺伝子の分布に明確な地域差が認められ、アジア山岳氷河のクリオコナイトメタゲノムからは極域に比して顕著な量の脱窒関連遺伝子が検出された。この結果から、アジアの

クリオコナイトでは、粒内部の嫌気的な環境において脱窒を行う細菌が相当量定着していることがわかった。他方、極域のクリオコナイトにおいては脱窒能を有する細菌は限定的にしか存在しておらず、脱窒反応自体がクリオコナイト群集内で主要な代謝ではないと推察された。

(2) シアノバクテリアの地域分布

現在までクリオコナイトを構成するシアノバクテリアとして、グリーンランドのクリオコナイトから単離された *Phormidesmis priestleyi* がほぼ唯一の記載種として知られていた。本研究では、メタゲノム配列から作成した MAG によって、*Phormidesmis priestleyi* に加え、未培養系統を含む多様なシアノバクテリアのゲノム情報を取得することに成功した。さらに、メタゲノムの配列量に基づき各試料中でのシアノバクテリア系統組成を算出したところ、極域のクリオコナイトでは *P. priestleyi* が単独で優占していることが判明した。一方、アジアのクリオコナイトにおいては *P. priestleyi* は非優占的であり、それ以外の系統が複数種共存する状態でクリオコナイトを形成していることがわかった。このように、「クリオコナイト」といっても地域によって、シアノバクテリアの系統組成が大きく異なることが判明した。

(3) シアノバクテリアの生態的多様性

MAG にコードされた機能遺伝子の情報から、各シアノバクテリア系統が有する代表的な代謝能が明らかとなった。そして、各シアノバクテリア系統が地域ごとに異なる分布を示したように、代謝能の面に関しても地域差が見られた。例えば、極域とアジアとではシアノバクテリアが利用する光波長が異なるということが MAG から推測された。極域で優占的な *P. priestleyi* は全シアノバクテリアが共通して有している赤色光捕集用のアンテナタンパク質「フィコシアニン」と「アロフィコシアニン」の遺伝子のみを保持していた。一方、アジアで優占していた系統は、これら赤色光用アンテナタンパク質遺伝子に加え、緑色光を捕集するアンテナタンパク質「フィコエリスリン」の遺伝子を有していることが判明した。クリオコナイト試料を低温蛍光スペクトル分析にかけたところ、アジアのクリオコナイトからは顕著なフィコエリスリンの蛍光ピークが認められ、メタゲノムから推定された光特性と一致した。さらに、アジアのシアノバクテリアの一部系統は、利用できる光波長に応じてフィコシアニンとフィコエリスリンの量を調節する能力(補色順化能)を有していることが遺伝子情報から示唆された。

また、窒素の利用機構に関しても興味深い差異が見つかった。シアノバクテリアの多くは硝酸塩を窒素源として利用するためにフェレドキシン型の亜硝酸還元酵素遺伝子を有している。この遺伝子は今回見出されたクリオコナイトシアノバクテリアが全て有していた。一方、アジア特異的に分布していた系統のうちいくつかは、フェレドキシン型に加えて NADH 型の亜硝酸還元酵素遺伝子を有していた。

このような地域ごとに異なるクリオコナイトの細菌群集構造は、各地の氷河環境の差異を反映していると考えられる。具体的な環境要因として、各地の氷河に供給される栄養物質の量が挙げられる。アジア内陸部の急峻な山間に形成される氷河は、極域で広大な氷床を形成する氷河に比べて周囲からの土砂や雪崩の流入する頻度が多く、また、周辺の乾燥地帯や都市部からのダストが降着することが知られている。こうした外部環境からの流入物には硝酸塩や有機物といった栄養基質が豊富に含まれていることがこれまでの観測から報告されている。したがって、アジアのクリオコナイトにおいて脱窒能を有する細菌が優占した背景として、このような比較的豊富な栄養基質(硝酸塩・有機物)の供給があるためだと考えられる。また、シアノバクテリアに関して、フィコエリスリンや補色順化能という「比較的高コスト」な光捕集機構を有する系統や、NADH 型亜硝酸還元酵素遺伝子を有する系統がアジアに顕著だった理由の一つも、代謝に利用できる基質量がアジア山岳氷河においては比較的豊富であるためと推察される。これら一連の研究成果は 2022 年に *Microbiome* 誌にて報告した。

本研究によって、クリオコナイト細菌群集が、系統組成や代謝能の面で地域ごとに異なる性質を持つ存在であるということが初めて明らかとなった。そして、こうした群集構造の地域多様性に影響を与えている氷河環境の地域性について、メタゲノムから判明した細菌の代謝能を踏まえた考察で具体的に議論した。この成果は、氷河生態系の地球規模での多様性に光を当てるものであり、今後予測される気候変動が氷河生態系にどのような影響を与えるのかを予測する上でも重要な知見である。微生物群集に影響を与える環境要因としては、硝酸塩以外にも様々な栄養塩や、栄養塩以外の様々な物理化学的な要因(緯度や標高、太陽光の波長組成、気温、降水量など)も考えられる。今後、データ量を増やしより包括的な解析を実施することで、氷河生態系のさらなる詳細に迫っていききたい。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Murakami Takumi, Takeuchi Nozomu, Mori Hiroshi, Hirose Yuu, Edwards Arwyn, Irvine-Fynn Tristram, Li Zhongqin, Ishii Satoshi, Segawa Takahiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Metagenomics reveals global-scale contrasts in nitrogen cycling and cyanobacterial light-harvesting mechanisms in glacier cryoconite	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiome	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40168-022-01238-7	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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村上匠、瀬川高弘、竹内望、森宙史
2. 発表標題 メタゲノムデータから見る氷河細菌群集構造の詳細
3. 学会等名 日本微生物生態学会 第35回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村上匠
2. 発表標題 メタゲノムデータから紐解く氷河シアノバクテリアの多様性
3. 学会等名 藍藻の分子生物学2022（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村上匠、瀬川高弘、広瀬侑、石井聡、森宙史、竹内望
2. 発表標題 メタゲノムを用いた氷河微生物群集「クリオコナイト」の広域間比較解析
3. 学会等名 第16回日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村上匠、瀬川高弘、竹内望、森宙史
2. 発表標題 メタゲノム解析で明らかにする氷河細菌叢のダイナミクス
3. 学会等名 日本微生物生態学会第34回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村上匠、瀬川高弘、広瀬侑、森宙史、竹内望
2. 発表標題 メタゲノムデータから解明する氷河細菌群集の地域的多様性
3. 学会等名 第14回日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2020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
---------	---------