

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15301

研究課題名(和文) 深海底熱水孔コスモポリタン微生物の環境適応能の解明と海洋循環評価法への応用

研究課題名(英文) Environmental adaptation of cosmopolitan microorganisms living in deep-sea hydrothermal environments and the application of insights in the microbial genetics to evaluation of the ocean current

研究代表者

美野 さやか(Mino, Sayaka)

北海道大学・水産科学研究院・助教

研究者番号：00755663

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、熱水孔環境に普遍的に優占する化学合成独立栄養細菌を対象に、培養非依存・依存的手法によって、熱水孔微生物の環境適応戦略や分布様式を理解するとともに、それらの知見を海洋循環評価法へと応用することにある。本研究では、1) 深海底・浅海底熱水孔微生物の増殖生理学的特徴が一部異なること、2) コスモポリタン微生物は、同海域内でも深海底と浅海底熱水孔環境では異なる遺伝的特徴を有していることを明らかにすることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋の還元的環境に普遍的に生息するコスモポリタン微生物を対象に、そのゲノムワイドな遺伝的多様性を評価することは、海洋微生物の分布様式の形成や種分化メカニズムの理解に寄与するとともに、生物学的側面から海洋循環を評価する新規手法構築の足がかりになることが期待できる。さらに、本研究で得た新規性の高い難培養微生物株は、難培養性系統群の生理生態学的特徴の理解にも貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study are to understand the environmental adaptation and the distribution pattern of cosmopolitan microorganisms living in hydrothermal environments, and to develop the fundamentals for evaluating the ocean currents from the aspect of biological insights. We have obtained the isolates of cosmopolitan species from the shallow and deep-sea hydrothermal environments, and have compared their phenotypic characteristics. In addition, in order to evaluate their distribution pattern, we have analyzed the genetic diversity of the isolates by MLSA.

研究分野：海洋微生物学

キーワード：深海底熱水活動域 生物地理 Campylobacteria Epsilonproteobacteria

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

深海底熱水孔環境は暗黒・高圧、かつ 300 以上の高温熱水が噴出する極限環境であるにもかかわらず、現場には微生物活動に依存した独自の生態系が存在する。現場のコモポリタン微生物のうち、*Campylobacter* 綱に属する化学合成独立栄養細菌は、これまでの先行研究により、海域独自の遺伝的多様性をもち、各海域の熱水環境へ適応進化している可能性が示唆された。しかし、微生物の環境適応の科学的解明に成功した例はない。また、熱水孔微生物の分布様式や分散過程、コモポリタン微生物の遺伝的多様性を詳細に理解することで、海洋表層の海流が海洋深層に与える影響や、深層海洋循環の推定に貢献することも期待される。

### 2. 研究の目的

本研究では、深海底熱水孔環境に普遍的に優占する化学合成独立栄養細菌 *Campylobacter* を対象に、環境適応戦略の多角的解明と、遺伝的多様性解析による熱水孔微生物の分布様式の理解およびその知見を生かした海洋循環評価法の基盤を構築することを目的とした。具体的には、分離株を用いた遺伝子配列解析と各種増殖生理学的性状の評価、浅海底および深海底熱水孔環境コモポリタン微生物の遺伝的特徴の比較解析により、目的を達成することを目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 分離株の取得およびコモポリタン微生物の分布様式の評価

黒潮の影響を受けうる熱水孔環境として、沖縄近海の 2 つの浅海底熱水活動域(台湾亀山島熱水活動域・竹富島海底温泉)および沖縄トラフ深海底熱水活動域を調査対象とした。熱水性試料からコモポリタン微生物 *Campylobacter* を対象とした培養条件にて、分離培養を行った。得られた分離株を対象に 16S rRNA 遺伝子塩基配列情報に基づく種同定を行った。

Multilocus sequence analysis (MLSA) 法による遺伝的多様性解析を進めるため、新たにプライマーを設計し、1 株につき 6~8 つのハウスキーピング遺伝子の塩基配列を得ることを目指した。研究代表者がこれまでに取得した沖縄トラフ深海底熱水活動域由来株を合わせて、遺伝的多様性解析を進めた。さらに、微生物群集構造レベルでの分布様式の比較のために、浅海底熱水孔環境試料から DNA を抽出し、meta16S 解析を実施した。熱水孔微生物の分散能を評価するために、噴出熱水からの距離と微生物群集構造の関連性も評価した。

#### (2) 分離株の増殖生理学的評価による環境適応能

浅海底および深海底熱水活動域由来の *Campylobacter* 綱に属する分離株を対象として、酸素耐性や利用可能なエネルギー基質など、培養実験によって増殖生理学的性状を評価した。増殖強度は DAPI 染色による直接計数法および濁度測定によって評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 分離株の取得およびコモポリタン微生物の分布様式の評価

沖縄トラフ浅海熱水活動域および深海底熱水活動域から、新たに *Campylobacter* 綱や *Persephonella* 属に属する細菌計 33 株の分離培養に成功した。16S rRNA 遺伝子塩基配列解析から、新種の可能性があるものも含まれていることが明らかとなった。

MLSA 法により、沖縄トラフ内の深海底および浅海熱水活動域由来の *Campylobacter* 綱に属する常温性細菌 *Sulfurovum* 属および *Sulfurimonas* 属の遺伝的多様性を比較したところ、浅海熱水活動域由来株と深海底熱水活動域由来株ではその遺伝的特徴が異なり、種分化していることが示唆された。また、アレルタイプングの結果、深海底熱水活動域由来株間では同じアレルタイプが検出されるものの、浅海熱水活動域由来株とはアレルタイプをシェアしていなかったことから、浅海底と深海底の熱水活動域間では遺伝子交流が起こっていないことが推察された(Fig. 1)。本結果から、日本近海の表層海流である黒潮は、沖縄トラフ熱水孔環境微生物の浅海-深海間の分散に影響を与えているわけではないことが示唆された。

また、meta16S 解析によって、異なる熱水系であるが同程度の深度に存在する竹富島海底温泉と亀山島熱水活動域では、その熱水中の微生物群集構造は類似する傾向が示された(Fig. 2)。噴出熱水で認められた熱水孔環境固有の微生物に帰属するリードは、熱水孔から数十センチ以降の試料では検出されず、群集構造も大きく変化した。このことから、熱水孔環境特有の微生物群集は、海水との混合によって希釈され、噴出孔から数十センチ離れた場所では検出できないほどにその集団サイズが縮小することが示唆された。

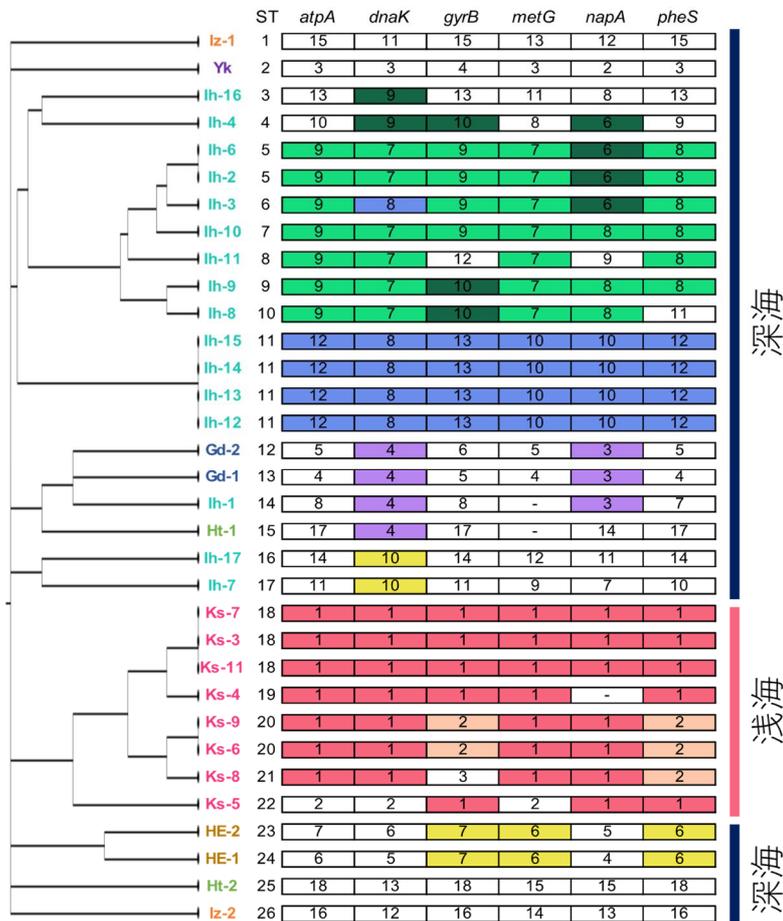


Fig. 1. *Sulfurovum* 属の分離株を対象とした 6 遺伝子の塩基配列に基づくアレルタイピング.

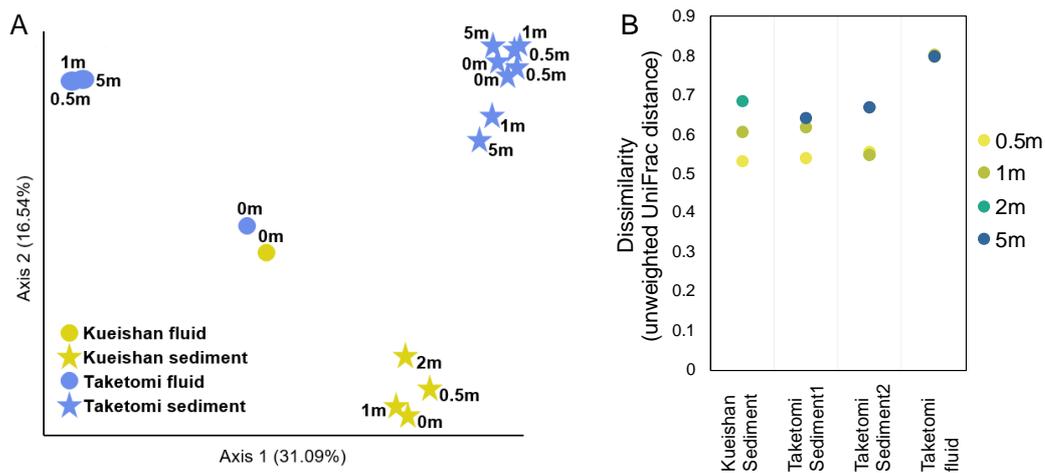


Fig. 2. 異なる熱水孔環境における微生物群集構造 (A)と熱水孔からの距離 0m との微生物群集構造の非類似度 (B) (Unweighted UniFrac 距離).

(2) 分離株の増殖生理学的評価による環境適応能

浅海底および深海底熱水活動域由来の分離株を対象にした培養試験の結果、浅海底熱水活動域由来の分離株は、深海底熱水孔環境由来株と比べて相対的に酸素耐性が高い傾向が明らかになった。現場の溶存酸素濃度測定は行なっておらず、実際の環境については調査する必要があるものの、浅海底熱水活動域由来の化学合成独立性用微生物は酸素利用能が高く、現場に適応した性状を有することが示唆された。また、新規性の高い分離株の各種性状決定も進めた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mino Sayaka, Shiotani Taiki, Nakagawa Satoshi, Takai Ken, Sawabe Tomoo	4. 巻 44
2. 論文標題 Hydrogenimonas urashimensis sp. nov., a hydrogen-oxidizing chemolithoautotroph isolated from a deep-sea hydrothermal vent in the Southern Mariana Trough	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Systematic and Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 126170 ~ 126170
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.syapm.2020.126170	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shiotani Taiki, Mino Sayaka, Sato Wakana, Nishikawa Sayo, Yonezawa Masanori, Sievert Stefan M., Sawabe Tomoo	4. 巻 15
2. 論文標題 Nitrosophilus alvini gen. nov., sp. nov., a hydrogen-oxidizing chemolithoautotroph isolated from a deep-sea hydrothermal vent in the East Pacific Rise, inferred by a genome-based taxonomy of the phylum "Campylobacterota"	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0241366
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0241366	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
1. 著者名 Fukushi Muneyuki, Mino Sayaka, Tanaka Hirohisa, Nakagawa Satoshi, Takai Ken, Sawabe Tomoo	4. 巻 23
2. 論文標題 Biogeochemical Implications of N <sub>2</sub> -Reducing Thermophilic Campylobacteria in Deep-Sea Vent Fields, and the Description of Nitratiruptor labii sp. nov.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101462 ~ 101462
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101462	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 -
1. 著者名 Mino Sayaka, Yoneyama Naoki, Nakagawa Satoshi, Takai Ken, Sawabe Tomoo	4. 巻 6
2. 論文標題 Enrichment and Genomic Characterization of a N <sub>2</sub> -Reducing Chemolithoautotroph From a Deep-Sea Hydrothermal Vent	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 e0241366
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2018.00184	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 美野さやか, 丸山史人, 中川聡, 牧田寛子, 高井研, Stefan Sievert, 澤辺智雄
2. 発表標題 深海底熱水活動域に生息するコスモポリタン微生物の集団ゲノミクス解析
3. 学会等名 環境微生物系学会合同大会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 美野さやか
2. 発表標題 沖縄近海の熱水域におけるコスモポリタン微生物の地理的分布様式
3. 学会等名 第51回ビブリオシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Abe S, Mino S, Ozasa K, Sawabe T.
2. 発表標題 Exploring the aerotaxis of chemolithoautotrophs isolated from deep-sea hydrothermal fields.
3. 学会等名 32nd Annual meeting of JSME
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fukushi M, Tanaka H, Mino S, Nakagawa S, Takai K, Sawabe T.
2. 発表標題 Ecophysiology of a novel thermophilic N <sub>2</sub> O-reducing epsilonproteobacterium isolated from a deep-sea hydrothermal field.
3. 学会等名 32nd Annual meeting of JSME
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tominaga C, Mino S, McNichol J, Chan B, Tang SL, Nakagawa S, Miyazaki J, Takai K, Sawabe T.
2. 発表標題 Distribution pattern of microbial communities in the shallow-water hydrothermal field off Kueishan Island, Taiwan
3. 学会等名 32nd Annual meeting of JSME
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 深澤操, 美野さやか, 中川聡, 高井研, 澤辺智雄
2. 発表標題 沖縄トラフ深海底熱水活動域由来の新規好熱性 Campylobacteria
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会北海道支部大会
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		
中国	Academia Sinica		