

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19364

研究課題名(和文)細菌の秘めたる環境生残戦略：ストレス抵抗性を高める種間相互作用

研究課題名(英文)Survival strategies of bacteria -interspecies interactions for increasing stress tolerance-

研究代表者

春田 伸(Haruta, Shin)

首都大学東京・理学研究科・教授

研究者番号：50359642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：紅色非硫黄光合成細菌の塩ストレス抵抗性を上昇させる土壌細菌を発見した。また、好熱性細菌の生育可能温度域を変化させる細菌を陸上温泉から見出した。さらに、緑色系状性光合成細菌は、硫化水素の酸化産物である単体硫黄による生育阻害を受けるが、単体硫黄を硫化水素と硫酸に変換する硫黄不均化細菌との共培養により、良好に生育することが分かった。また、硫黄不均化細菌は自身の生成する硫化水素によって生育阻害を受けるが、緑色系状性光合成細菌との共培養で良く生育した。毒性の高い生成物を相互に除去し合う共生関係を見出し、これら共培養条件における代謝を遺伝子転写レベルでも示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微生物は、ヒトの健康や植物成長、環境保全に大きな役割を担っている。動植物体内や自然環境は、微生物にとって常に生育に適した状態にあるわけではなく、生育不適環境における微生物の生残戦略を知ることは重要である。本研究では、ストレス抵抗性を高め、生育不適環境を生き抜く細菌種間相互作用を広く見出した。細菌の種間相互作用として、競争や阻害、捕食が古くから知られていたが、状況に応じて競争相手の力を借りる「合従連衡」ともいべき生存戦略の発見は興味深く、環境細菌の協調作用や多種細菌の共進化を理解するうえでも重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：We found soil bacteria that increased salt tolerance of purple non-sulfur bacteria. We also found bacteria that expanded the growth temperature range of thermophilic bacteria from terrestrial hot springs. Furthermore, we found a symbiotic relationship in which highly toxic products were mutually eliminated: elemental sulfur has an inhibitory effect on bacteria. But a green filamentous bacterium, Chloroflexus actively grew to produce elemental sulfur under co-culture conditions with a sulfur-disproportionating bacterium, Caldicrobium that converts elemental sulfur into sulfide. The growth of sulfur-disproportionating bacteria are suppressed by sulfide produced by themselves. But Caldicrobium grew well in the co-culture with Chloroflexus that convert sulfide into elemental sulfur. These metabolic interactions were also shown by transcriptional analyses.

研究分野：環境微生物学

キーワード：生残戦略 種間相互作用 細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自然環境で細菌は、栄養飢餓、高塩濃度、乾燥、高浸透圧、高温といった様々なストレスにさらされるが、死に絶えることなく生残している。環境ストレスに対する細菌の抵抗機構には長い研究の歴史があり、細胞内成分や膜組成の変化、細胞修復酵素の発現などが土壌細菌や病原細菌を中心に報告されている。しかし、環境ストレスへの抵抗性に影響する種間相互作用についてはほとんど知られていない。

2. 研究の目的

二種の生物間には、資源を巡る競争関係がある一方、共通の敵の出現など過酷な状況になると、協力して立ち向かう協力関係も知られる。これは人間社会や動物群集、植物群集でしばしば観察されている。細菌も他種と一緒にいるとストレス抵抗性を向上し、生残性を維持していることを示唆する観察がある。多種細菌が共存する自然環境における細菌の生存戦略を明らかにすることを目指し、本研究では、種間相互作用による協調的な細菌の生残戦略が広く細菌界にみられることを検証し、そのメカニズムの解明を目的とした。

3. 研究の方法

環境ストレス抵抗性を高める種間相互作用について、次の三つの課題を同時並行的に進めた。

- (1) 「土壌細菌の高塩濃度耐性」
- (2) 「好熱性細菌の熱耐性」
- (3) 「光合成細菌の単体硫黄抵抗性」

それぞれについて、二種細菌の混合培養によるストレス抵抗性、生残性を評価するとともに、代謝動態、遺伝子転写動態を解析した。

4. 研究成果

(1) 土壌細菌の高塩濃度耐性

被験菌として、これまで遺伝学的、生化学的特性が詳しく調べられている土壌細菌のひとつ、紅色非硫黄光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* を対象とした。作用菌の探索には、東京都立大学南大沢キャンパス内の土壌試料を用いて、これまでに考案してきた寒天重層隔離培養法を使用した。高塩濃度ストレスとして NaCl を含む寒天培地で、被験菌と土壌試料を二層に分けて培養し、被験菌の生育が見られた近傍にコロニーを形成していた土壌細菌を選択した。

被験菌 *R. palustris* が単独では生育できない高 NaCl 濃度で、その生育を可能にする土壌細菌を5株見出すことができた。その作用は、共培養における細胞密度や細胞状態によって変化することが分かった。ただし、この共培養効果を示す土壌細菌の形質は安定せず、実験室での培養履歴も強く影響すると思われた。

(2) 好熱性細菌の熱耐性

70 までの生育が報告されている好熱性細菌、*Chloroflexus* 属細菌を対象に、その熱耐性に与える他細菌の影響を評価した。高温硫化水素泉(中房温泉、長野県)から、*Chloroflexus* 属細菌を含む好熱性細菌を広く分離培養し、単独培養、および、分離株を組み合わせた共培養条件で、生育温度特性を評価した。

Chloroflexus 属細菌同士の特定の組み合わせによる共培養により、生育可能温度域の拡大が観察された。同時に最終到達細胞密度の上昇も見られた。これらの共培養効果は、*Chloroflexus* 属の種を問わず観察され、また種間 (*C. aggregans*, *C. aurantiacus*, *C. islandicus*) でも観察された。一方、この共培養効果は株特異性があり、系統群に保存された形質ではないと考えられた。これら細菌についてゲノム情報を比較・解析したが、種間相互作用に関わる遺伝子の違いを見出すことはできなかった。

(3) 光合成細菌の単体硫黄抵抗性

単体硫黄(元素硫黄)の抗菌作用は古くから知られている。一方、元素硫黄を含む硫黄泉にも細菌群集の繁茂が観察されている。高温硫黄泉から分離した緑色系状性光合成細菌 *Chloroflexus aggregans* の生育に与える硫黄化合物の影響を評価したところ、硫黄華を添加した培地で生育抑制が確認された。さらに、硫化水素を添加した培地での生育を試みたところ、単体硫黄と考えられる顆粒の生成が見られ(図1)、本菌は自身でも単体硫黄を生成し、それによる生育阻害もあると考えられた。

そこで、高温硫黄泉から分離された硫黄不均化細菌 *Caldimicrobium thiodismutans* との共培養効果を調べた。この硫黄不均化細菌は、単体硫黄を硫化水素と硫酸に変換して生育する。共培養条件を最適化し、段階的に培地成分を変えながら継代培養を繰り返すことで、これら二種細菌が安定に生育できる共生系を構築することに成功した。共培養系では硫黄顆粒の蓄積は観察されず、両者の生育に伴う硫酸の生成を確認することができた。硫黄不均化細菌は、自身の生成する硫化水素により生育阻害を受けることが知られていたが、この共培養系では、光合成細菌による硫化水素消費が硫黄不均化細菌の生育を可能にしたと考えられた。このように毒性の高い生成物を相互に除去し合う種間相互作用を見出すことができた(図2)。これら二種細菌の関係や相互作用は、生育や代謝物動態だけでなく、それぞれの代謝を担う遺伝子の転写量解析からも示すことができた。

さらに、以上の知見をもとに、野外硫黄泉での細菌の生育様式を探った。上記、緑色系状性光合成細菌(*C. aggregans*)と硫黄不均化細菌(*C. thiodismutans*)が共存する微生物群集が長野県中房温泉(弱アルカリ性高温硫化水素泉)に観察される。この微生物群集を昼夜を通して採取し、全RNAを抽出して転写物量の変化を解析した。その結果、日照に依存した転写物量の変化から、野外環境においても、これら二種細菌の共生関係が示唆された。



図1 *C. aggregans* の顕微鏡写真
硫化水素添加条件では、多くの顆粒
(硫黄)の蓄積が観察される。

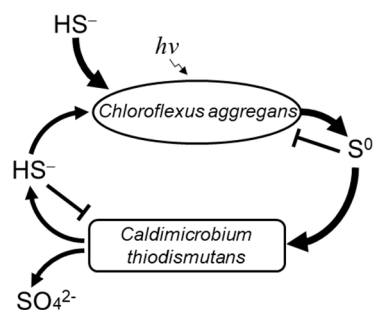


図2 光合成細菌(*C. aggregans*)と
硫黄不均化細菌(*C. thiodismutans*)
の共生モデル
毒性生成物を互いに除去し合う。

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 Kawai Shigeru, Kamiya Naoki, Matsuura Katsumi, Haruta Shin	4. 巻 10
2. 論文標題 Symbiotic Growth of a Thermophilic Sulfide-Oxidizing Photoautotroph and an Elemental Sulfur-Disproportionating Chemolithoautotroph and Cooperative Dissimilatory Oxidation of Sulfide to Sulfate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1150
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2019.01150	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3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河合繁、松浦克美、春田伸
2. 発表標題 Syntrophic association between sulfur disproportionating bacterium and anoxygenic photosynthetic bacterium, <i>Chloroflexus aggregans</i>
3. 学会等名 日本微生物生態学会第32回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 品田美緒、川村のぞみ、松浦克美、春田伸
2. 発表標題 Thermal tolerance of the cyanobacterium <i>Thermosynechococcus</i> sp. distributed in Nakabusa hot springs
3. 学会等名 日本微生物生態学会第32回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 春田伸
2. 発表標題 人工微生物群集を用いた進化生態学研究
3. 学会等名 進化群集生態学シンポジウム2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Shin Haruta (分著)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 De Gruyter	5. 総ページ数 412
3. 書名 Biotechnological Applications of Extremophilic Microorganisms (Life in Extreme Environments)	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----