

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24657012

研究課題名(和文) GenBank データに基づく全球スケールでの微生物多様性分布の解明

研究課題名(英文) The description of microbial diversity on the earth using GenBank

研究代表者

村上 正志 (Murakami, Masashi)

千葉大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50312400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000 円、(間接経費) 930,000 円

研究成果の概要(和文)：地球規模での微生物群集(asmblages)多様性に対する、分散制限の存在と局所的な環境の相対的な効果を解明することを目的として、データベースの探索と野外調査を行った。対象としたのは、湖沼における微生物群集、および、雪氷環境における藻類群集である。解析の結果、それぞれの群集において、地球規模での広範な移動分散が観察された。一方で、局所的に種分化した系統も同時に見られ、微生物の戦略として、広範な移動分散を行う系統と、局所に留まってその場に適応する系統が共に存在することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：There is a common hypothesis "Everything is everywhere, but the environment selects" for the distribution and functioning of microbes. To confirm this hypothesis, the analyses based on data base search and also field samplings were carried out. The targeted assemblages were bacteria in freshwater ecosystem, and green algae on cryosphere. The analyses revealed the simultaneous existence of cosmopolitan- and endemic- clades within closely related microbial assemblages. These results suggested the synergetic effects of dispersal and local environmental niche for the diversity and structure of microbial assemblages. The relative importance of these factors should be further examined in future studies.

研究分野：基礎生物学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：系統地理 雪氷藻類 湖沼微生物 分散制限 環境フィルター Baas Becking 仮説

1. 研究開始当初の背景

生態系における物質循環のほとんどを微生物が担っている。このような生態系機能をもつ微生物多様性の維持機構を理解するための第一歩は、自然界における微生物種の分布を明らかにすることである。微生物種の分布域に制限があるか？微生物多様性が環境とその場での種分化のどちらにより制限されているか？を明らかにすることで、環境の変化に対する微生物多様性の反応を予測することが可能になる。近年、分子生物学的な手法の発展により、微生物の多様性に関して様々な解析手法が開発されているが、この情報のみでは、微生物種の分布そしてそれぞれの種のもつ機能は分からない。本研究の目的は、GenBank 等を活用して、全球スケールでの微生物の分布地図を作成することで、微生物群集構造の決定要因を検討することである。

2. 研究の目的

地球上の様々な環境において、微生物の担う生態系機能は極めて重要であり、植物とともに生態系の骨格をささえている。このような生態系機能は単独の種によるものではなく、群集として多数の種が相互作用して発現するものである。したがって、微生物が担う生態系機能の発現機構を理解するには、微生物群集の形成機構を明らかにする必要がある。微生物群集の形成機構について、古くは1930年代に Beijerinck と Baas Becking が、"Everything is everywhere, but, the environment selects: 全てのもはどこにでもいる。しかし、環境が選択する"とする仮説を唱えている。Baas Becking 論文の被引用回数は近年顕著に増加しているが、これにしたがえば、微生物の分布を決定するのはその場の環境のみであることになる。しかしながら、当然のことではあるが、近年の研究はこの仮説を鵜呑みにしたものではない。2000年代には、種多様性の空間分布の決定機構として、環境異質性 = ニッチだけでなく、種分化の重要性が認識されるようになった。微生物生態学においても、近年、Nature 等にレビュー論文が発表されるなど、環境だけでなく、その場での種分化を取り込んで微生物群集の多様性を捉える試みが始まっている。

そこで本研究では、GenBank データベースを用いて、全球スケールでの微生物種の分布を明らかにする。GenBank を用いることで、種の機能と分布情報、そして配列情報を同時に得ることができる。これらの情報をもとに、全球スケールでの微生物群集の形成機構としての、環境と種分化の相対的重要性について検討することを目的とする

3. 研究の方法

本計画では、既存の塩基配列データベース GenBank を網羅的に探索して、全球スケールで微生物多様性の分布地図を描く。ま

た、特定の環境に特異的に適応した生物群集を対象として、現地調査により、全球スケールで微生物多様性の分布地図を描く。具体的には、湖沼生態系と雪氷藻類群集に注目し、データベース上の配列データ・分類情報・環境情報を全て抽出する。さらに、それぞれの微生物種の潜在的な分布域を外挿して各種の微生物の分布地図を描く。さらに、多様性と環境の対応関係について解析可能な群集のスケール = 空間スケールを探索的に検討した。これらの結果をもとに、微生物の群集構造に対する環境要因・種分化の相対的重要性を評価した。

4. 研究成果

湖沼微生物群集については、解析に必要な湖沼情報を抽出するため、学術文献データベース Web of Science (Thomson Reuters Inc.) を用いて文献検索を行い、いくつかのフィルターを通して、世界各地の湖沼 149 ヶ所を選定した。

一方、DNA データベース (DDBJ/GenBank/EMBL) から塩基配列データを収集した。16S rRNA 遺伝子を対象として、データベースから塩基配列を抽出し、22650UT を得た。

そして、抽出した配列データから分子系統推定を行い、各湖沼の系統的多様性と湖沼間の系統的類似性を計算した。

結果として、微生物が気候帯に関係なく一定の多様性を維持しており、低緯度で多様性が高くなり、地理的障壁の影響がみられないことから、歴史要因は微生物群集の地理的分布に影響を及ぼしていないことを示唆している。しかし、微生物群集の地理的分布に分散制限が影響を及ぼしていることも示唆された。

雪氷藻類群集については、アラスカ、グリーンランド、スバルバル、日本、パミール、南極の計 6 領域からサンプルを収集した。日本国内では、15 地域で赤雪を採取した。赤雪は潜在的に多様なため、形態情報が必須である。そこで、シングルセルでの同定を行い、遺伝子解析を行った。遺伝子情報としては 18S rRNA - ITS2 領域 (c.a. 2,500bp) を利用した。

結果として、シングルセル抽出した 627 細胞のうち 61 細胞で配列決定に成功した。18S rDNA を用いて系統樹を作成した結果 (図 1)、南極を除く地域から成るコスモポリタンクレードが *Chloromonas* 属内に確認された (99.9% 相同)。さらに、このクレード内で ITS 解析を行った結果、大きく異なる 2 つのハプロタイプ群を得た。また、これらのクレード内では、明確な地理パターンは確認されなかった。

南極を除く全球で共有される ITS ハプロタイプが存在することから、この OTU がコスモポリタン種である事が示唆された。同様に *Chlamydomonas* 属内においても、南極を除く

北半球のサンプルが、18S 領域について 99% 以上の相同性で単系統を形成していた。しかし、ITS 解析の結果、これらのクレードでは共通ハプロタイプが存在せず、北半球で広範な分散をするが遺伝子流動は比較的弱い事が示唆された。さらに、南極のサンプルは、

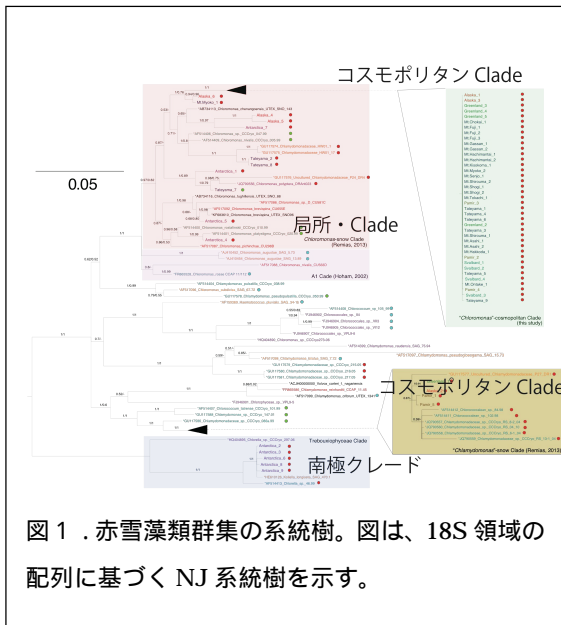


図 1 . 赤雪藻類群集の系統樹。図は、18S 領域の配列に基づく NJ 系統樹を示す。

種レベルで高い固有性を示しており、南極における固有性が強く示唆された。

結論として、北半球の赤雪を構成する緑藻群集はコスモポリタン種と固有種の両者から構成されることが示された。前者は北半球で広範な分散をする事が確認され、後者は分散制限を持つ paleoendemic 種であることが示唆された。また、両半球の間、特に南極において、強い障壁が存在していることが示され、南極の赤雪藻類は独特の進化の歴史を遂げていることが示唆された。本成果は、学術論文として、Microbial Ecology 誌に投稿中である。

本研究では、さらに、対象とする藻類種を拡大して解析を進めた。ここでは、世界の氷河域で優占する 3 種、*Ancylonema nordenskiöldii*, *Mesotaenium berggrenii*, *Cylindrocystis brebissonii* について、系統地理学的な解析を進めた。その結果、種内での系統関係から、これらの藻類についても、地球規模での広範な移動分散が見られるが、地域間での系統に偏りが見られるため、ある程度の分散制限の存在も示唆された。ただし、これらの種については、さらに、サンプル数を増やした解析が必要である。

これらの結果を通じて、微生物群集における、多様性や種内での遺伝構造に関して、一貫して、地球規模での分散の作用と同時に、局所的な環境がそれぞれの種や遺伝子型を選択していることが示された。今回の結果を基に、それらの相対的な重要性を具体的に解明することが、次の研究ステップとなる

う。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 伊藤亮太、村上正志、竹内望 (2014 年 3 月 17 日) 赤雪藻類の生物地理学 Cosmopolitanism or Endemism? 日本生態学会 (広島)
2. 伊藤亮太、村上正志、竹内望 (2013 年 9 月 10 日) 赤雪現象に関わる緑藻微生物の生物系統地理学 Fifth International Conference on Polar and Alpine Microbiology. (モンタナ・米国)
3. 藤井正典、伊藤亮太、平尾聡秀 (2012 年 3 月 7 日) 微生物群集の系統的多様性の全球パターン 日本生態学会 (静岡)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

村上 正志 (Masashi Murakami)
千葉大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号：50312400

(2)研究分担者

福井 学 (Manabu Fukui)
北海道大学・低温科学研究所・教授
研究者番号： 60305414

平尾 聡秀 (Toshihide Hirao)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・講師
研究者番号： 90598210

(3)連携研究者

()

研究者番号：