

〈特集〉

環境微生物の多様性解析と未知微生物の探索、今後の展望

鎌形 洋 一¹⁾

¹⁾産業技術総合研究所 (〒305-8560 茨城県つくば市梅園1-1-1 中央第1)

概要

環境に存在する微生物が私達の想像を大きく上回るほどの多様性に満ちていることが明らかになったのは1990年代に入ってからである。2000年代には、次世代シーケンシング技術によって決定的なものになった。今、我々の周りには、驚くほど多様で機能未知かつ未培養の微生物が存在し、生物生態系の根幹をなしていることが分かりつつある。本稿では、環境微生物学の歴史的な台頭、そして明らかになりつつある未知・未培養微生物の実体について概説したい。

キーワード：未知微生物、未培養微生物、微生物間相互作用、メタゲノム解析

原稿受付 2018.1.29

EICA: 22(4) 27-30

1. はじめに

微生物のことを一切知らない人でも大腸菌という名前だけは聞いたことがあるだろう。そして大腸菌はこの世にウヨウヨして私達の健康を蝕む代表的な「バクテリア」だというイメージを持っているだろう。四半世紀前まで、微生物研究者や分子生物学者ですら大腸菌がこの世の微生物の代表であると信じていた。大腸菌がすべてではないことはもちろん知っていたとしても、である。大腸菌のことがわかれば大抵の謎は解けると思っていた時代が長く続いた。今日環境微生物学研究者の多くは大腸菌が土壌や海洋などのありふれた場所にはほとんど存在していないことを知っている。人や家畜の消化管を主なすみかにしているものの、その割合は0.1%にも満たない。つまり、大腸菌が栄華を極め我がもの顔に振る舞っている環境など世界のどこにも存在しないのである。現代の環境微生物学はこうした単純な事実を我々に提示し始めている。一方、ベロ毒素を持つO157:H7という特別な抗原型の大腸菌は突如として私達を襲い、死に至らしめることもあるが、それがどのような感染ルートを経て私達に辿り着くのか正確なことはわかっていない。現代の環境微生物学は今後こうした問題にも立ち向かわなければならぬ。

2. 微生物学の黎明期から環境微生物学の夜明け前

19世紀後半、黎明期の微生物学はヒトや家畜の重篤な病気、アルコール発酵のような私達の眼前に広が

る現象の「実体」に迫る学問として幕を開けた。1680年アントニー・ファン・レーベンフックが自家製の顕微鏡を用い、ビールの発酵液に小さな丸い生物を発見して以来150年以上の時を経てからのことである。この当時、疾病、発酵、腐敗あるいはさまざまな物理化学的現象の背景にある微生物について「何一つ」明らかになっておらず、「微生物を特定し、それらの現象との因果関係を証明する」ことが何よりも重要な課題だった。そうした時代にロベルト・コッホ、ルイ・パスツール、ジョゼフ・リスターを初めとする数多くの先人が近代微生物学を築き上げていった。自然発生説を唱える学者がまだ闊歩していた時代に、である。一方、微生物学は驚くほど短期間のうちに伝染病研究の線上で今日の免疫学の基礎を築きワクチンの開発にまでつながった。そしてほどなく生命現象そのものの本質を捉える遺伝学や分子生物学へと発展していった¹⁾。1952年、生物がDNAという暗号によって支配されていることが明らかになって以来²⁾、どのようにDNAが次世代に受け継がれ、どのような分子機構によってRNAへの転写が起き、どのようにRNAからタンパク質が翻訳されるのか、といった今日の分子生物学の基礎となる知見が蓄積していった。1950年代から1980年代のこうした研究においては、大腸菌、枯草菌、酵母などがモデル微生物として盛んに用いられ、今日の前核生物(いわゆるバクテリアとアーキア)と真核生物(カビ・酵母からヒトを含めた高等生物)の理解が急速に進んでいったことは、広く知られている事実である。また、遺伝子組換えの基盤技術も1970年代から1980年代中盤までに完成した。きわめて乱暴な言い方をすれば、この時代の微生物は分子生

物学を進展させるための格好のモデル生物であり、上述の微生物はいわばその道具として用いられていた。誰でも実験室で簡単に培養できる微生物だったからである。そんな中、環境微生物、つまりこの世に存在する「その他大勢の雑菌」についての関心は限局的だった（大腸菌でさえも環境微生物であることは念のため申し添えておく）。

もちろん研究者が環境微生物に興味を持っていなかった訳ではない。むしろさまざまな自然現象を微生物の活動と結びつける研究は盛んに行われていた。環境微生物の初期の関心は何と言っても C, N, S, P と書いた基本的な元素の循環あるいは金属の酸化・還元に関わる微生物にあったと言って良いだろう。環境微生物学の中で最も古い専門誌としては米国微生物学会が発行している Applied and Environmental Microbiology がある。1953 年創刊のこの雑誌は 1974 年まで Applied Microbiology という雑誌だった。微生物をどのように応用するか、を主眼とする雑誌で今なお脈々と続いている微生物培養方法の改変、化学物質の分解、抗生物質や酵素の生産などが紙面の多くを占めている。それでも 22 年間で出版された 5134 報の論文のうち硝化・脱窒に関する研究報告が 66 報、メタンの酸化やメタン生成が 98 報、硫酸還元がおおよそ 100 報、活性汚泥が 85 報、といったように今日に至る環境微生物学の主要課題がすでに取り上げられているのがわかる³⁾。ただ、登場するアンモニア酸化菌、脱窒菌、メタン酸化菌、メタン生成菌、硫酸還元菌などは、今日私達が知っているそれらの微生物群のごく一部にしか過ぎない。研究者は一握りの種類の微生物の窓からこれらの代謝形式の一端を眺めていたのである。

3. 微生物学の本流としての環境微生物学

環境微生物という概念が極めて重要であると認識され、上述の学術誌が 1975 年 Applied and Environmental Microbiology と改名されてから今日まで 37,701 報に及ぶ研究論文が掲載されている³⁾。このうち、硝化・脱窒の報告は 1,725 報、窒素固定は 2,555 報、活性汚泥や Anammox は 2,091 報、バイオフィームは 3,290 報、クオラムセンシングは 1,069 報、PCB・トリクロロエチレン・2,4-D・石油系炭化水素などの環境汚染化学物質の分解は 2,518 報、メタン発酵やメタン酸化は 2,700 報、金属還元菌や電気産生・消費微生物は 1,115 報に及ぶ。扱われる微生物の種類も飛躍的に増加した。環境微生物学がこの時代から劇的に進歩したこと、そしてアンモニアの嫌気酸化、嫌気的なメタン酸化、バイオフィームの形成機構、微生物シグナルネットワークの一つであるクオラムセンシ

ング、電子を直接授受する微生物、多様な有害物質分解除去菌など、新たな知見が続々と発見されてきたことがここからも一目瞭然である。

そして、この 10 年ほどの間に環境微生物学、あるいは環境微生物という概念は「微生物学の本流」になったと言って良い。あらゆる微生物の存在とその活動結果が今日の地球生命圏を作った、という認識が広く浸透したこと、そして原初生命の誕生から今日に至るまで、微生物が最も多様な生物群であり続けているという動かしがたい事実を研究者が認識し始めたからである。

環境微生物が微生物の多様性、未知微生物、難培養性微生物といった言葉とともに、多くの微生物研究者の意識上に現れるようになったきっかけはいくつもある。その中の最初の大きな出来事は、環境中には培養できないし、培養できないがゆえに何をしているのか機能も全くわからない微生物が大多数であるという発見である。発見という言葉はいささか不正確で、多くの微生物学者が環境微生物の実体を明らかにしようとしてきた過程で醸成された共通認識と言って良い。そのきっかけは 1985 年 Staley と Konopka によってもたらされた⁴⁾。顕微鏡下で見える環境試料中の微生物細胞数と寒天培地上でのコロニー計数値が全く合わなかったのである。顕微鏡で観察できる微生物のごくわずかしこコロニーを作らないという観察結果である。現代微生物学の基本は、一つの細胞が必ず倍々に増えて最終的に人の眼で認識可能なほどに増えた細胞集団を形成すること、つまり「コロニーを作る」ことを大前提としている。大腸菌ならば、十分な栄養と酸素条件下、およそ 30 分で 2 倍になるため半日で数学上 10 億個ほどの細胞の塊になる（図 1）。こうしてできたコロニーを数え、もともとの環境試料にどれだけの細胞がいたのかを計算するのである。今日でも、この方法が標準手法として細菌検査さらには一般的な微生物探索の現場で当たり前のように使われている。しかし、もし知りたい微生物が固体培地上でコロニーを作らな

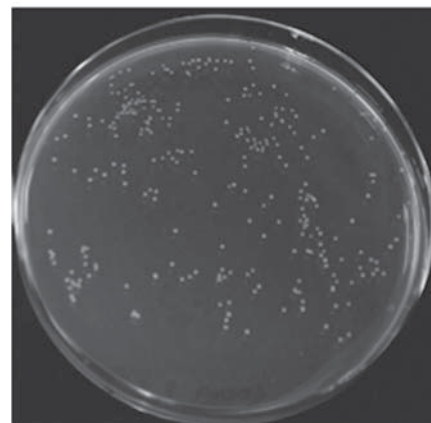


図 1 微生物が固体培地で作るコロニー。

いとしたら、この方法論は脆くも崩れ去ってしまう。大腸菌のような誰でも増やせる「飼い慣らされた」細菌であれば何の問題もなくコロニーを形成するが、海水中の細菌は 10^4 個を固体培地に接種してもコロニーは1個出現するかどうかである。土壌細菌でもコロニーを作るのはせいぜい1%程度である。ここに環境微生物学の本質的課題が内包されている。皮肉にも固体培養法は19世紀に誕生した現代微生物学を飛躍的に発展させる原動力であった。それがゆえに微生物は(必ず)固体培地でコロニーを作ると信じ続けてきたのである。あるいは、コロニーを作らない微生物は「無意識あるいは意識的に」排除してきたとも言える。問題は結果としてどういう微生物がコロニーを形成するかわかるが、どういう微生物はコロニーを作らないのかわからない、という点にあった。少なくとも1990年くらいまではそれを知ろうと思っても知る術がなかった。

微生物の圧倒的な多様性、培養できない未知微生物の圧倒的な数がほぼ完全に意識されるようになったのは2000年初頭以降急速に発達してきた大規模シーケンス技術によるメタゲノム解析にあると言ってよい(詳細は本誌岡部聡氏の総説を参照されたい)。大規模シーケンス技術は環境試料から直接抽出したDNAから培養することなく直接ゲノム情報を得る方法である。次世代シーケンシング・次次世代シーケンシング技術の急速な発達には環境中の微生物細胞一つ一つの完全ゲノム再現に到達しつつある。この技術のもたらした衝撃ははかりしれない。培養できない微生物がどのような進化系統的位にあるかはもちろん、どのような機能を持ちうるかを推定できるようになったからである。微生物(特に細菌)を分類するときのグルーピング階層の最上位である門(phylum)として34門が現在正式に認められている⁵⁾。正式に認められている、とはその門に属する微生物が単離・培養されその生理学的性状が学問的に記述されていることを意味する。単離・培養された微生物に基づく分類群の持つ意味は大きく、微生物の分類体系を揺るぎないものにしていく。筆者らはこうした「確かに存在する微生物」に依拠して体系化された分類学を重んじ、未培養の微生物を分離することを絶やすこと無く続けている。しかし、古典的な分類学は今大きく揺らごうとしている。私達の想像をはるかに超えた微生物の多様性とゲノム情報が日に日に明らかになるにつれ、環境微生物の驚くべき分野をいたずらに古典的分類体系基準で(つまり分離された微生物情報に基づく形で)排除することは、もはやできないところにまで来ているからである⁶⁾。図2がそれを顕著に物語っている。1987年には12門の細菌グループが知られていた。現在それは34門まで増えたが、培養できていない微生物の門

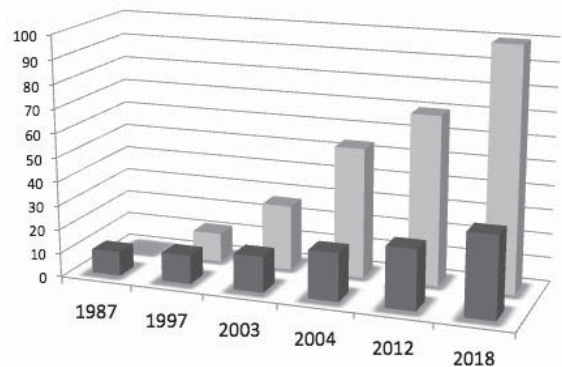


図2 微生物の最上分類階層(門)の数の推移。黒は正式に認められた門の数。灰色は分離・培養されていないがメタゲノム解析でその存在が明らかになった門の数。

は1987年にはゼロだったが、2000年を境に急増し今では100門を超えるほどになっている(さまざまなグルーピング手法が統一性を欠いているため正確な数値は出せない)。

4. 環境微生物学の向かうところ

ヒトには100兆個の単位で微生物が消化管、皮膚、口、生殖器などに住み着いている。起きている時間つねに手放さない人達もいるスマートフォンのディスプレイにはその人の口腔細菌、皮膚常在菌を初めとする無数の微生物が付着している。消化管の微生物はヒトの健康や疾病と密接な関係がある。メタゲノム解析から推定される1,000種類以上の微生物は何らかの必然性を持って消化管に存在している。多くの人をこれを消化管微生物と呼ぶが、これはまさしく立派な環境微生物である。彼らはなぜそこに選ばれて存在しているのか?なぜ1,000種類程度しかいないのか?あるいは1,000種類も住み着かなければならないのか?環境(人体)が住み着く微生物を選んでいる。食生活や遺伝的形質が住み着く微生物を選んでいる。年齢とともに住み着く微生物が変遷する。住み着く微生物が腸内環境を形成する。そして、それらのすべてが宿主であるヒトの健康や生体機構と密接に関わり合っている。

人類が作り出した最も高度な人工環境微生物生態系は何と言っても活性汚泥やメタン発酵などの水処理システムである。ここにはヒトの消化管とは全く種類を異にする極めて多くの微生物が活動している。しかし、そこで活動する微生物の種類や機能に関わる問いは、ヒトの消化管の微生物に対する問いかけと何ら変わることはない。一つ一つの施設が一人一人の個体と同じである。

微生物学が挑むべき究極の課題は生命史の幕開けの謎解きと今日の複雑系生物ネットワークの解明に尽きるかもしれない。すなわち、どうして生命が生まれた

のか、最初に生まれた材料は、RNA か DNA かタンパク質か、そしてそれがいつ生命として自律的に増殖を始めたのか、という謎解き。アミノ酸や核酸を初めとする生体材料を地球の原初環境を模倣した実験室で作出した例は星の数ほどある。しかし生命の起源の研究が始まって100年以上経った今も無生物から生物を作ることに成功した実験例は無い。そして今日の課題、すなわち生物と生物は（あるいは細胞と細胞は）どのようなネットワークシステムを構築して全体として動的にかつ一見安定したシステムを維持しているのか、という問いである。それは裏返せば、どういうネットワークの遮断が生物システムの一部あるいは全体を崩壊させてしまうのか、と同義である。高速シーケンサーの時代が訪れ、地球上にいるほぼすべての微生物のゲノム情報はあと10年もしないうちに読み尽くされるだろう。しかし、10年かかっても間違いなく残るのは微生物を中心とした生物社会全体の構造と機能の解明である。もちろん、この間に大きな実務的挑戦の数々が待ち受けている。果たして、微生物を

コントロールすることによってヒト、家畜、作物の健康を維持できるのか、食糧の増産を可能にするのか。短期的にも長期的にも環境微生物学の役割はますます重要になってくると言える。

参考文献

- 1) W. Bulloch 細菌学の歴史 天児和暢訳 医学書院 (2005).
- 2) A. D. Hershey and M. Chase : Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* 36 : 39-56 (1952).
- 3) *Applied and Environmental Microbiology*, ASM : <http://aem.asm.org> (2018).
- 4) J. T. Staley and A. Konopka : Measurement of in situ activities of non-photosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annu. Rev. Microbiol.* 39 : 321-346 (1985).
- 5) NCBI : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=292625&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (2018).
- 6) A. Laura, J. F. Banfield et al. A new view of tree of life. *Nature Microbiol.* 1 : 16048 (2016).