

大規模ゲノム情報を活用した深海バイオリソース研究

課題責任者

平岡 聡史 海洋研究開発機構 海洋機能利用部門 生命理工学センター

著者

平岡 聡史*¹, 高木 善弘*²

*¹ 海洋研究開発機構 海洋機能利用部門 生命理工学センター, *² 海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門 超先鋭研究開発プログラム

キーワード: 深海バイオリソース, メタゲノム解析, バイオインフォマティクス, 海洋微生物

1. 背景

バクテリアやアーキア、ウイルスといった微生物は、土壌や大気、海洋など、地球表層のあらゆる環境に生息している。特に海洋には、光合成による一次生産が活発な海洋表層（水深0~200 m）、暗黒・低温・高圧環境である深海（水深200~10,000 m）、摂氏数百度にも達する高温熱水が吹き出す熱水噴出孔など、多様な環境が存在し、そこに生息する微生物は陸上環境とは大きく異なる群集構造や微生物学的特徴を持つことが知られている。しかしながら、特に深海環境における微生物試料の採取には高度な探査技術が必要であり、国際的にも実施可能な研究機関は限られているため、深海微生物生態系の研究数は他環境と比較して少なく、その全容はほとんど分かっていない。このことは、微生物を含む海洋生物の生態系や、微生物が駆動する地球規模での物質循環などの理解を困難にしているのみならず、産業利用を志向した深海微生物の遺伝子資源の開拓を進める上で大きな障害となっている。

微生物の大半は、実験室環境下での分離培養が困難である。そのため、環境微生物を理解し利用するためには、分離培養株を用いた実験的な観測や操作に加えて、非培養的な解析を実施することが重要である。今日、非培養的な微生物解析のために、様々なゲノムベースの手法が考案され、広く利用されている。例えば16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により、微生物叢を構成する原核生物系統の相対存在量を推定することが可能である。またメタゲノム解析と呼ばれる手法では、微生物叢から直接DNAを抽出しシーケンス解析を実施することで、微生物ゲノム情報に直接アプローチすることが可能である[1]。さらに、近年登場し発展してきたロングリードシーケンシング技術を応用することで、一般的に実施されるショートリードシーケンシングを用いたメタゲノム解析よりも高品質な微生物ゲノムの再構築やDNA化学修飾（エピゲノム）解析も実施することができる[2]。このような非培養的・網羅的なゲノム解析から得られた配列データをもとに、詳細なバイオインフォマティクス解析を進めることで、環境微生物の生理生態の解明や有用な遺伝子資源の探索することが可能である。

そこで課題責任者の所属グループ（海洋機能利用部門 生命理工学センター 深海バイオリソース研究グループ）では、中長期計画「海洋資源の持続的有効利用に資する研究開発」の一環として、海洋環境に生息する原核生物やウ

イルスを対象とした、培養・非培養ベースの研究を広く展開している[3,4]。本申請課題では、地球シミュレータシステムを活用し、特に海水や堆積物を中心とした試料から得られた16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析・メタゲノム配列情報を大規模に利用したバイオインフォマティクス解析を実施した。

2. 深海堆積物中の微生物叢を対象とした大規模メタゲノム解析

北西太平洋海域の様々な海域（日本海溝、伊豆・小笠原海溝、マリアナ海溝、南海トラフ、琉球海溝、沖縄トラフ、相模湾、駿河湾など）において独自に採取された海底堆積物コアを利用して、大規模な16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析・メタゲノム解析を実施した。具体的には、異なる堆積物深度からサブサンプリングされた100以上の試料を対象に、Illumina MiSeqやHiSeqを用いたショートリードシーケンスを行い、得られたリード配列から菌叢構造を推定した（図1）。さらに、特に炭素代謝や窒素循環に関わる機能遺伝子の予測と分布評価を実施したほか、栄養塩濃度などの環境情報を考慮した統合的解析を実施した。

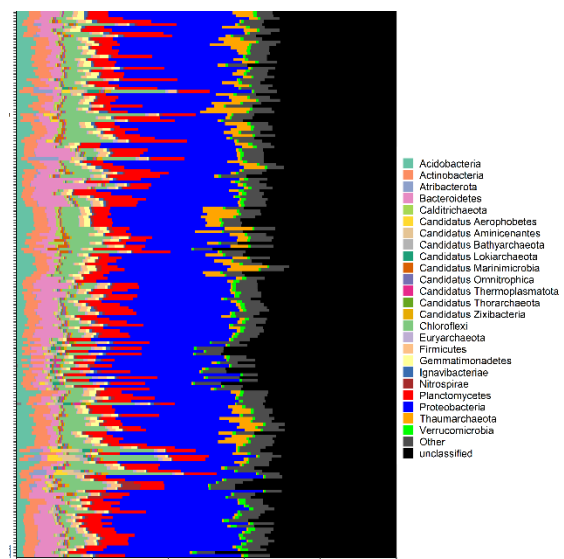


図1 予測された微生物叢構造（門レベル）

次に、この堆積物メタゲノムデータを活用し、遺伝子配列の網羅的探索と微生物ゲノムの再構築 (metagenome assembly) を試みた。その結果、海洋微生物が持つ遺伝子配列やゲノム配列 (Metagenomic assembled genome; MAG) を大量に取得することができ、得られた配列をデータベースとして纏めた (図2、3)。現在、環境中での分布評価や進化系統解析などを含む、より詳細な配列解析を進めている。

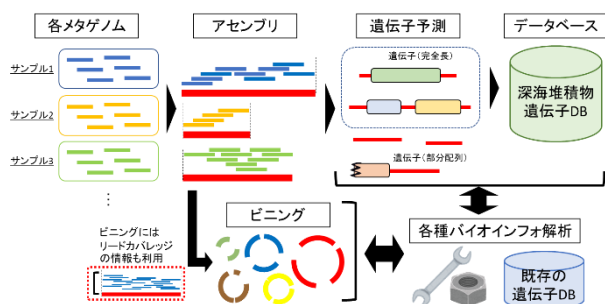


図2 メタゲノム解析ワークフローのスキーム図

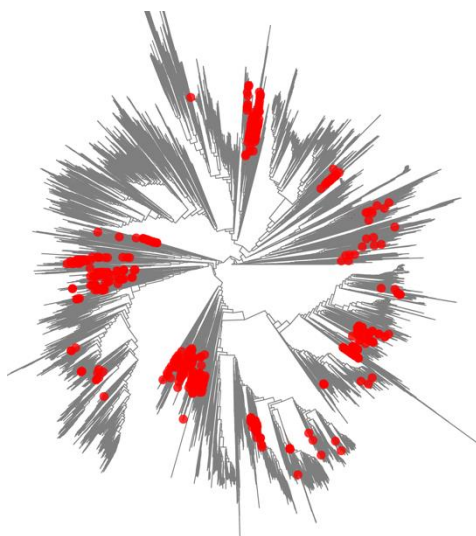


図3 得られたMAGの進化系統樹

バクテリアについてのみ表示した。深海堆積物由来のMAGを赤色のノードで示している。

さらに今後、構築したデータベースを基盤として、新規性が高く学術的に興味深い遺伝子や産業応用を志向した有用酵素などをターゲットとした探索型研究を推進していく予定である。具体的には、機構内外の研究者や企業と共同で、ターゲットとする機能性タンパク質の選定や新規探索を実施していく。さらに、分子系統解析やタンパク質立体構造予測などのより高度なバイオインフォマティクス解析や、異種発現系・無細胞系を用いたタンパク質発現実験と酵素学的解析を通じて、その進化史や作用機構などを明らかにし、深海環境微生物が持つ機能の解明を目指す。

謝辞

本研究は、海洋研究開発機構の地球シミュレータシステムを利用してバイオインフォマティクス解析を実施した。また、本研究はJSPS 科研費 (JP 20K15444、JP21K18156、JP22K05398) の助成を受けた

文献

- [1] S. Hiraoka, C-C. Yang, W. Iwasaki, "Metagenomics and bioinformatics in microbial ecology: Current status and beyond. *Microbes and Environments*, 31(3), 204-212, (2016)
- [2] S. Hiraoka, Y. Okazaki, M. Anda, A. Toyoda, S. Nakano, W. Iwasaki. "Metaepigenomic analysis reveals the unexplored diversity of DNA methylations in an environmental prokaryotic community," *Nature Communications*, 10, 159, (2019)
- [3] S. Hiraoka, M. Hirai, Y. Matsui, A. Makabe, H. Minegishi, M. Tsuda, Juliarni, E. Rastelli, R. Danovaro, C. Corinaldesi, T. Kitahashi, E. Tasumi, M. Nishizawa, K. Takai, H. Nomaki, T. Nunoura. "Microbial community and geochemical analyses of trans-trench sediments for understanding the roles of hadal environments" *The ISME Journal*, 14, 740-756, (2020)
- [4] S. Hiraoka, T. Sumida, M. Hirai, A. Toyoda, S. Kawagucci, T. Yokokawa, T. Nunoura, "Diverse DNA modification in marine prokaryotic and viral communities," *Nucleic Acids Research*, 50, 1531-1550, (2022)