

高解像度化する微生物生態解析 —使いこなせ、次世代技術—

ポピュレーションダイナミクス研究委員会

本委員会は、これまでに水環境中の微生物の生態系・生物学的排水処理での微生物群集の挙動解析などの研究成果発表会を企画し、これらの解析の重要性を議論してきた。近年の分子生態解析およびそれを有効利用したモニタリング技術の急速な発展と水環境分野への普及は周知のとおりであり、今日ではゲノムレベルから生態解析メカニズムを考察することが可能になってきている。このようなモニタリングのための分子生態学に基づいた解析技術の著しい進展の一方で、高度な解析により得られる知見が、実用的・工学的観点から「水処理プロセス」へどのように貢献できるか、その可能性や課題については今後も引き続き議論していく必要がある。今年度のシンポジウムではここ数年で急速に高解像度化した微生物生態解析の技術に関して先駆的研究を行っている5名の招待講演者にレビューしていただき、これらの手法の原理・応用例の紹介と水環境プロセスへ利用可能性について議論した。

諸野樹祐氏（海洋研究開発機構）からは、Nano-scale Secondary Ion Mass Spectroscopy (NanoSIMS) の紹介と低活性の海底下微生物群の検出・定量に関する発表があった。NanoSIMSはナノスケールの質量分析により単細胞レベルで基質と取り込みを検出・定量可能な新しい技術である。下北半島沖海底から採取した試料を¹³Cでラベルした有機化合物と¹⁵NでラベルしたNH₄⁺で培養し、海底下の代謝活性の極めて低い微生物群の検出に成功している。基質の取り込みの不均一性や定量性・コストに関する幅広い議論があり、聴衆の関心の高さが窺えた。NanoSIMSの利用により、微生物生態内での基質の流れをすべて可視化できるため、未培養微生物の機能と系統をつなぐ強力な手法であることが報告された。

野田尚宏氏（産業技術総合研究所）からは、環境微生物定量のための次世代型遺伝子定量技術に関する発表があった。リアルタイムPCR法などの遺伝子定量技術の汎用性が高くなっているが、コストや精度に問題がある。新たな定量手法として開発された Alternatively Binding Probe Competitive PCRは、エンドポイントのみで遺伝子を定量可能な技術である。バイオレメディエーションを志向した有機塩素化合物からの脱塩素を行う微生物群の定量に用いられており、今後、様々なアプリケーションへ応用が期待される。また、汎用的な蛍光プローブを用いる Universal QProbe PCR法や次世代型シーケンサーも合わせて紹介され、ハイスループットな遺伝子定量技術の進展が窺えた。

伊規須素子氏（東京大学）からは、顕微赤外分光法を用いた原核生物ドメインの識別に関する発表があった。赤外分光法は物質による赤外光の吸収に基づく分析手法であるが、細菌と古細菌の脂質の化学的構造の差異からそれぞれの存在比の定量することが可能である。この手

法を応用した μ -FTIR法を用いて、鹿児島県菱刈金山から採取された微生物マットでの細菌／古細菌の定量を行い、他の定量手法と類似した結果が得ている。本手法は、前処理を必要とせずに生きたままドメインの識別を可能にしており、迅速で簡便な技術であることが窺えた。厚いサンプルへの適用、門レベルやさらに細分された分類へのアクセス、高解像度化などに向けた今後の展望に聴衆からの期待が寄せられた。

佐藤浩昭氏（産業技術総合研究所）からは質量分析法による微生物の定量・分類技術に関する発表があった。細菌細胞中に多量に存在するリボソームタンパク質を指標として、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) を適用することで、微生物の株レベルでの同定が可能になる。実際に、*Pseudomonas putida* 16株の *gyrB* 遺伝子の質量変異をMALDI-MSで解析したところ、同遺伝子の塩基配列に基づく系統解析とほぼ同じ結果になった。さらに、発展させたMALDI-MSにより、微生物細胞の表面に存在する脂質を分離・識別することに成功しており、質量分析法による微生物分類学、さらには環境微生物学の進展が今後ますます大きくなることが窺える内容であった。

井町寛之氏（海洋研究開発機構）からは、難培養性微生物の培養技術に関する発表があった。新たに開発した自然環境を模擬した培養法では、一定の基質濃度の連続供給や代謝産物・生物因子の交換を容易に可能にするものである。例として、中空糸膜隔離分離培養法 (HFMC) と微生物排水処理リアクターを利用した離培養試験を挙げ、干潟や深海の堆積物に棲息する難培養性微生物の培養に成功したことを示した。環境を模擬するというコンセプトに基づく分離培養法の開発は、新たな未培養微生物の獲得を可能にする技術になりうることを示す内容であった。また、目的微生物の濃縮や目的外微生物の死滅を志向した目的微生物獲得のための支援技術も紹介され、今後の成果が期待された。

5名の演者の発表は、環境微生物の解析技術の進展・深化を聴衆に大いに認知させる非常に示唆の富んだ内容であった。これらの技術・手法を水処理プロセスの微生物生態解析にそのまま適用するにはコストやアクセスを含めて未だに障害があるかもしれない。しかしながら、我々が今後アクセスできる機会は増えることは間違いない。そして、これらの技術・手法は、今まで以上に膨大で重要なデータを我々に提供することになるだろう。微生物生態学の進展に貢献させることはもちろんのこと、この強力な次世代技術をいかに使いこなして水処理技術の進展に利用していくか、水処理技術に携わる研究者は知恵を絞っていく必要があると感じさせられた。

(東京農工大学 寺田昭彦)