

# メタゲノム解析で海洋資源を生かす

竹山 春子

土壌や海水に含まれる多種多様な生物の DNA 断片を、一括してシーケンスする「メタゲノム解析」に注目が集まっている。分離・培養が難しい微生物のゲノム情報や遺伝子配列を、直接得ることができるからだ。その中には、環境保全や工業、医療などに生かせるものも多いと考えられる。早稲田大学理工学術院の竹山春子教授は、メタゲノム解析によってカイメンやサンゴに共生する微生物のゲノム情報を洗い出し、有用な遺伝子の探索や機能解析、データベース化などを進めている。

**Nature Digest** — 海洋をフィールドにされたのは？

**竹山** — 直接のきっかけは、大学院の指導教授が、海洋生物学（マリンバイオテクノロジー）を専門にしていたからです。もともと環境保全の分野に興味があったのですが、1980年代の当時は、二酸化炭素の増加と温暖化の問題が騒がれはじめたころでした。島国の日本では「炭素固定のためには、森林だけでなく海洋の藻類も利用すべきだろう」との議論があり、私たちは、各地の海水を集めて、微細藻類など海洋光合成微生物の分離・培養を進め、それらの遺伝子改変を行いました<sup>2</sup>。

微細藻類は光合成のための色素を持つので、培地で殖やすと褐色や緑などの色が付きます。うまくいけば1～2週間

識別できるようになるのですが、下手をするとカビやバクテリアが先に生育してしまいます。そこで、培地にさまざまな工夫をするなど改良を重ねました。沖縄でのサンプリングにも参加しましたが、楽しい思い出として残っています。フィールドに出るのは、かけがえのない経験になりますね。

**メタゲノム解析とは**

**ND** — 培養が難しいというのが、メタゲノム解析を始めた理由ですか？

**竹山** — その通りです。今でこそ、環境中の微生物の約99%、海洋に限ると99.99%以上が分離・培養できないものであると認識されるようになりましたが、20年以上も前に、すでに私はそのことを実感していました。一方で、ヒトゲノム計画によってDNAの塩基配列を読む技術が飛躍的に進み、培養できる微生物については、その全ゲノムが解読されるようになりました。例えば醸造業に欠かせないコウジ菌や分裂酵母、抗生物質を産生する放線菌、コレラ菌やピロリ菌などの病原体、バイオテロの材料として危険視される炭疽菌などです。現在では、800種を超える微生物ゲノムが解読されています。

メタゲノム解析という手法は、環境中に存在する微生物を培養することなく、ゲノムDNAを直接回収し、配列を片っ端から読んでしまうものです。つまり環境中の遺伝子を直接利用するというわけで、多くの研究者の注目を集めました。当初は土壌中のDNAが対象でしたが、海洋環境にも適応されるようになったのです。セラ社の元社長で独自にヒトゲノムを解読したクレイグ・ベンター氏も、現在、趣味のクルージングを生かして世界中の海水を採取し、メタゲノム解析をしているという話です。

**ND** — 具体的に、メタゲノム解析で何がわかるのでしょうか？

**竹山** — メタゲノム解析のすごいところは、姿形がとらえられない微生物でも、ゲノム情報を手に入る点です。このとき、16SリボソームRNA遺伝子\*の配列の一部を入手できれば、既存種の同遺伝子の配列と比べることで、その配列の持ち主がどのような種なのか、おおざっぱに推定できます。また、遺伝子情報がわかることで、そこにいる微生物群の代謝も推測することができ、環境中での役割も推定できます。産業応用という点では、特定の機能をもつ新規の遺伝子を探索することなどが可能です。例えば、化学工業で利用される変換酵素などです。

マリンメタゲノムからライブラリー構築までの模式図

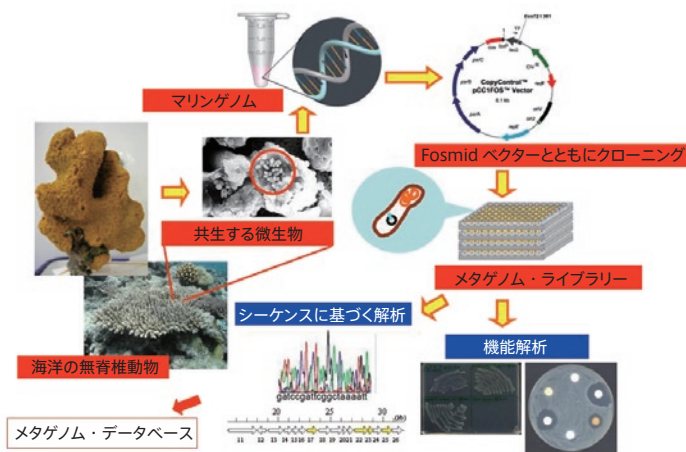


図1 マリンメタゲノム研究の概要。海洋無脊椎動物から共生微生物を回収し、そのメタゲノムを抽出、ライブラリー化する。その後、ライブラリーを用いて生理活性があるかどうかのスクリーニング、配列をもとにした遺伝子スクリーニング、遺伝子の大規模シーケンスなどによってメタゲノムデータベースを構築し、有用遺伝子の探索を行う。

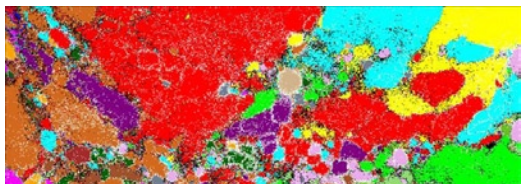
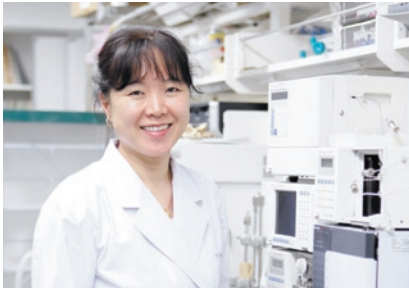


図2 カイメン共生微生物メタゲノムのSOM解析。すでに全ゲノム配列がわかっている微生物ゲノムの情報（各色ごとに微生物が異なる）をもとに作成されたSOM地図に、カイメンに共生する微生物のメタゲノム断片配列を位置づけたもの。黒い点が各メタゲノム断片を示す（長浜バイオ大学の解析による）。現在も詳細な解析を継続している。



竹山春子 (たけやま・はるか) / 早稲田大学理工学術院 (先進理工学部生命医科学科) 教授、早稲田大学規範科学総合研究所 所長。博士 (工学)。専門はマリンバイオテクノロジー、ゲノム学、微生物工学。東京農工大学工学研究科で松永は教授に師事し、光合成微生物である海洋シアノバクテリアの遺伝子組み換え系の構築に関わる研究、そこからの有用物質生産や培養方法に関する研究に従事した。1991年からは共同研究先であるマイアミ大学海洋研究所の三井旭教授の下で、海洋シアノバクテリアによる水素生産に関する研究に関わった。1994年に東京農工大学工学部物質生物工学科助手。その

後、助教授、教授を務めた。松永研究室で、海洋光合成微生物を用いた有用物質生産の研究を継続しながら、マリンゲノム研究を展開。また、ヒト遺伝子の SNPs 解析<sup>1</sup>、解析のための自動化ロボットの開発研究にも従事した。この間、マリンメタゲノム研究を立ち上げた。2007年に早稲田大学に転出後は、マリンメタゲノム研究を進展させるとともに、「遺伝子を見る、利用する」を研究基軸として、微生物からヒトの遺伝子を解析、利用する研究を展開している。同時に、規範科学総合研究所を立ち上げ、科学を適正に推進する上で不可欠なレギュラトリーサイエンス (規範科学) の教育研究もスタートさせた。

ただメタゲノム解析では遺伝子配列を精査する必要があり、バクテリオフィームが大きなカギを握ることになります。

### カイメンは宝の山?

ND — 現在進行中の研究とは?

竹山 — 私たちは、主に沖縄の海をフィールドに、カイメンとサンゴの体内に共生している微生物の解析を進めています。カイメンは世界中の海に生息する無脊椎動物で、骨格はシリカ (二酸化ケイ素) でできています。色は、黄、赤、黒のものなどさまざまですが、いずれも表面に多くの孔を持ち、そこから水分と栄養源の海水を取り入れています。体内には大量の微生物が共生しており、なかには体積の 40% を微生物が占めるものもあります。

カイメンはさまざまな生理活性物質を生産することが知られていますが、最近の研究で、それらの一部は共生する微生物が作り出していることがわかってきました。こうした中には、抗生物質や抗がん剤、抗 HIV 薬などへの応用が期待される物質もあります。私たちは、特定の何種かのカイメンを対象に、体内に共生する微生物の種類をプロファイリングし、その季節変動や年変動を調べています。現在までに、カイメン 1 個体あたりが、少なくとも 30 ~ 40 種の微生物と共生していることや、季節や年に関係なく、同じような微生物プロファイリングを示す種があることを突き止めています (論文準備中)。

一方で、これらの微生物由来の遺伝子ライブラリー作りも進めています。カイメン由来の微生物のメタゲノムを断片化し、大腸菌を使ってライブラリー化したうえで、冷凍保管しています。すでに 9 万コロニー分がストックされています。その一部を解析したところ、カドミニウム蓄積遺伝子、耐塩遺伝子といった産業応用が可能な酵素遺伝子群がたくさん見つかりました。それだけでなく、それぞれの酵素遺伝子の配列にかなりのバリエーションがあることもわかってきました (論文準備中)。既知のものとは性質が異なるエステラーゼの遺伝子なども得られており、さらに詳しい解析を進めているところです。

ND — サンゴの研究の方はどのような状況でしょうか?

竹山 — やはり沖縄を中心に、カイメンと同じような共生微生物群の遺伝子プロファイリングを進め、同時にゲノム増幅技術の開発を行いました<sup>3</sup>。興味深いのは、サンゴの方は、種や季節による微生物群の変動が大きいことです。どのような状態の

サンゴにどのような微生物群の特徴が見られるのかわかれば、サンゴの白化現象の予防対策、サンゴを指標にした海洋汚染レベルの評価などが可能なのではないかと考えています。

### 重要性を増す海洋環境の研究

ND — 克服すべき課題はありますか?

竹山 — 強く感じているのは、メタゲノム解析を用いた研究では、共同研究を進める体制が不可欠だということです。生理活性のスクリーニングについて、東京農工大学、筑波大学、東北大学などのグループとの共同体制をとっており、それぞれで、特定の機能をもつ遺伝子についての探索と機能解析を進めています。私たちが構築したデータベースは、民間企業を含む国内外の共同研究者たちが自由に閲覧できるようになっています。さらに、長浜バイオ大学のバクテリオフィームチームに協力していただき、16S リボソーム RNA 遺伝子のデータ以外に、SOM (自己組織化写像) 解析という手法により、メタゲノム断片がどのような微生物由来なのかを推定しています (図 2 参照、論文準備中)。

海外では、温暖化に伴う海洋の温度変化、海水の pH 変動による微生物群の変動、病原性微生物の生息域の拡大の有無などを明らかにするため、さまざまな研究が始まっています。海洋微生物の変動は、最終的に私たちの健康や生活に大きく影響を及ぼすことになるので、今からモニタリングすることが必要だと考えています。日本は問題が発生してから慌てて手を打つ傾向にありますが、環境問題に関する成果を収めてきた国として、海洋環境にも目を向けるべきだと思います。その場合、遺伝子解析だけでなく、研究をより効率的に進めるためのサポート技術として、センサー、自動化ロボット、各種解析ツールの開発までを視野に入れた、息の長い予算配分が望まれると思います。

ND — ありがとうございます。 ■

聞き手は、西村尚子 (サイエンスライター)。

- 1 Maruyama K. et al. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 2282-2288 (2007)
- 2 Mukoyama D. et al. *FEMS Microbiol. Lett.*, **265**, 69-75 (2006)
- 3 Yokouchi et al. *Environ. Microbiol.*, **8**, 1155-1163 (2006)

\* 16S リボソーム RNA 遺伝子とは、細菌などの原核生物が共通してもつ、リボソームのサブユニットの遺伝子。約 1600 塩基対からなる相同性の高い配列だが、一部に変異しやすい箇所があり、その部位の配列を調べることで、系統分類や近縁種の同定が可能。