

無酸素環境下における共生微生物の実体解明

鎌形 洋一

多くの方はおそらく意識されていないかもしれないが、微生物学・微生物工学の分野でこの20年の間に飛躍的に進歩を遂げた分野は無酸素環境下における微生物、すなわち「絶対嫌気性微生物学」に関わる研究である。全生物群を三つに分類するドメイン説に基づく、アーキアはその一つを構成する生物群であり、その大部分が絶対嫌気性微生物である。また、もう一つのドメインであるバクテリア（いわゆる細菌）にも非常に多くの嫌気性微生物が含まれている。1980年前半まで我が国で嫌気性微生物を扱っていたのはほんの一握りの研究者たちだった。その後、世界中の多くの研究者の手によって、無酸素環境には驚くほど多様な微生物が存在し、地球規模での元素循環にきわめて重要な機能を果たしていることが明らかにされてきた。

嫌気性微生物の存在は大変古くから知られていたが、酸素を完全に遮断して分離・培養することが著しく困難だったことから、研究は好気性微生物よりもはるかに遅れていた。しかし、多くの培養手法が開発されるにしたがって、多様な嫌気性微生物の分離が可能となり、分子生態学の進展と相まって、この四半世紀で多くの嫌気性微生物が分離・培養されるに至った。さらには近年多くのゲノム解読が行われたことによって、無酸素環境における微生物の独自の生き様について多くの事実が明らかになりつつある。

嫌気性微生物の生理・生態を理解する上でもっとも重要な「原則」は、有機物（炭水化物・脂質・タンパク質・芳香族化合物など）を「無酸素」環境下で分解・代謝し、エネルギーを獲得しなければならない、という点である。これは「有酸素」環境下で酸素を最終電子受容体として呼吸を行う好気性微生物と決定的に異なっている点である。好気性微生物は有機物を徹底的に酸化し二酸化炭素まで持ってゆくと同時に、最終的に電子（還元力）を「有り余る」酸素に渡して水を生成する。高エネルギー状態の電子が電子伝達系を経て酸素に受け渡される過程で微生物は多くのエネルギー（ATP）を獲得することができる。一方、無酸素環境には文字通り酸素は存在しない。嫌気性微生物はこうしたなか、硝酸、硫酸、鉄などを酸素の代わりに最終電子受容体として呼吸するものがある。しかし大部分はこうした呼吸系を持っておらず不完全な有

機物分解しかできない。それゆえに、多くの嫌気性微生物は酢酸、プロピオン酸、酪酸、乳酸、エタノール、ブタノールなどを「発酵生産物」として蓄積するのである。

しかし、ここで明記すべき点は、こうした発酵生産物がひたすら無酸素環境下で蓄積し続ける訳ではない、というごく当たり前の事実である。もし、これ以上何も反応が起きなければ、無酸素環境は有機酸やアルコールに満たされた世界になってしまうだろう。ここで登場するのが、こうした発酵生産物をさらに酢酸と水素に分解する微生物、さらには酢酸や水素からメタンを生成する微生物である。プロピオン酸、酪酸、乳酸、エタノール、ブタノールなどの低分子有機酸・アルコール、さらには芳香族化合物などを分解する微生物はほぼ例外なく、「嫌気共生微生物 (syntroph)」と呼ばれている。なぜならば、酢酸と水素は、一定濃度以上蓄積すると、代謝全体が進行不能となり、自身の生育が完全に抑制されてしまうため、酢酸や水素を速やかに代謝する「除去者」とともに共存・共生する必要に迫られているからである(図1)¹⁻⁴⁾。

「嫌気共生微生物」はとりわけ水素濃度に感受性が高く、「除去者」によって水素除去が速やかに行われ、環境場における水素濃度が非常に低く保たれていないと生育することができない。このような水素発生微生物と水素除去微生物間での水素のやりとりを種間水素伝達 (interspecies hydrogen transfer) と呼んでいる。「嫌気共生微生物」には δ -Proteobacteria や Firmicutes などの門に属する多様な微生物種が存在するが、そのほぼすべてが「水素発生型酢酸生成細菌」である。そして酢酸や水素の「除去者」がメタン生成アーキア（メタン菌）とよばれる微

有機物（炭水化物・脂質・タンパク質ほか）

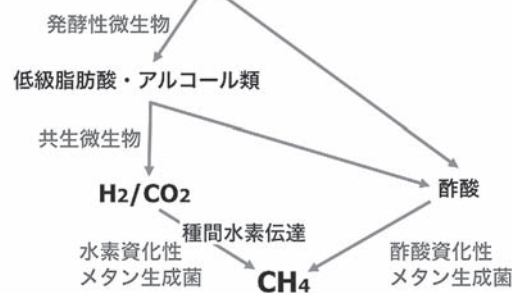


図1. 嫌気環境における有機物からのメタン生成経路

生物群である。メタン菌には大別して水素をエネルギー源とし二酸化炭素を還元しメタンを作るものと、酢酸から直接メタンを生成するものとが存在する。つまり、メタン菌は、「嫌気共生微生物＝水素発生型酢酸生成細菌」と非常に緊密な共生関係を持ちながら、最終的にはすべての有機物をメタンに転換するのである。この両者の関係こそが無酸素環境下における有機物の最終的分解において決定的な役割を果たしており、彼らの存在なくして、地球上の炭素循環は成り立ち得ない。

20世紀の終わりから今日に至る研究でもっとも重要な絶対嫌気性微生物学における成果の一つは、さまざまな「嫌気共生微生物＝水素発生型酢酸生成細菌」をメタン菌存在下で純粋共生系として分離し、その性質を明らかにしたことである。こうした研究は当初、米国や欧州のグループが先導していたが、この10年ほどの日本人研究者たちの貢献は傑出している。今日、世界で広く知られることになったプロピオン酸、酪酸、乳酸、エタノールなどをメタン菌共存下で分解する嫌気共生微生物の多くは我が国の研究者によって分離されてきた。こうした微生物の分離培養の多くは非常に困難を極め、数々の試行錯誤の末に成功したものである。我が国の研究者が伝統的に発酵性微生物の取り扱いに慣れ親しんできたこともこうした貢献につながっているともいえよう。

プロピオン酸を分解し、酢酸と水素を生成する「嫌気共生微生物」として分離されたもののうちもっとも重要なものは*Pelotomaculum*属の細菌である⁵⁻⁹⁾。同じく*Pelotomaculum*属細菌に属する微生物にはテレフタル酸などの芳香族化合物を分解する種も発見されている^{7,9)}。これらはいずれも日本の研究者によって初めて単離されたものである。*Pelotomaculum*属細菌は今日、水田土壌や地下圏からもクローンとして数多く検出されており、この属の微生物群が嫌気的な環境に普遍的かつ優占種の一つとして存在していることが明らかになりつつある。非常に興味深いのは、本属に分類される微生物群は硫酸還元細菌としてよく知られている*Desulfotomaculum*属のグループにきわめて近縁であるという点である¹⁰⁾。おそらく硫酸還元菌としての属性を進化の過程で喪失し、自身の生育をメタン菌などに依存する「嫌気共生微生物」へと変容を遂げていったものと推定される。また、この微生物は水素種間伝達を行うとともに、還元力を直接電子の形で移送する「ナノワイヤー」を持つ菌ではないかということで世界的にも注目されている¹¹⁾。「嫌気共生微生物」は相手方のメタン菌と物理的な近接性が必要であることは、理論的にも、また実際の観察結果からも知ら

れていたが、*Pelotomaculum*属細菌がこうした伝導性ワイヤーを持っているとすれば非常に興味深い事実である。

この菌の最初の種が単離された2000年以降、今日に至るまで、世界中の多数の論文の系統樹に登場するほど認知されるようになり、この微生物の重要性、そして難培養性微生物の分離・培養がいかに大きな意味をもたらすかを如実に物語る結果となっている。

*Pelotomaculum*属細菌に限らず、これまで分離がまったく困難だった*Chloroflexi*門細菌など¹²⁻¹⁴⁾、今日世界中の環境微生物学の論文に記載される分子系統樹には必ずといってよいほど、我が国の研究者によって分離された多数の微生物が登場する。そして現在これらの微生物のゲノム情報は次々と明らかにされており、さらなる貢献へと花開きつつある。無酸素環境における微生物の地球規模での機能解明は今まさに環境微生物学の中心的研究課題である。こうした中、「嫌気共生微生物」への関心の高まりとそれを支える我が国の研究は世界に誇るべき水準にあると言えよう。

謝辞：本稿の一部で紹介した研究は独立行政法人・産業技術総合研究所の関口勇地、花田智、服部聡（現・山形大学）ら、長岡技術科学大学の原田秀樹（現・東北大学）、大橋晶良（現・広島大学）、井町寛之（現・海洋研究開発機構）、山田剛史（現・豊橋技術科学大学）、邱艶玲（現・中国科学院）（以上敬称略）と共にを行った研究であり、ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) Sekiguchi, Y. and Kamagata, Y.: *Strict and facultative anaerobes: medical and environmental aspects*, p.361, Horizon Scientific Press, Norfolk, UK (2004).
- 2) Okabe, S. and Kamagata, Y.: *Environmental Molecular Biology*, Chapter 10, Caister Academic Press (2009).
- 3) Kamagata, Y. and Tamaki, H.: *Microb. Environ.*, **20**, 85 (2003).
- 4) Stams, A. J. M. et al.: *Nature Rev. Microbiol.*, **7**, 568 (2009).
- 5) Imachi, H. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3608 (2000).
- 6) Imachi, H. et al.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **36**, 1729 (2002).
- 7) Qui, Y.-L. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 1617 (2004).
- 8) Kosaka, T. et al.: *J. Bacteriol.*, **188**, 202 (2006).
- 9) Qui, Y.-L. et al.: *Arch. Microbiol.*, **185**, 172 (2006).
- 10) Imachi, H. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 2080 (2006).
- 11) Gorby, Y. A. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11358 (2006).
- 12) Sekiguchi, Y. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5740 (2001).
- 13) Sekiguchi, Y. et al.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **53**, 1843 (2003).
- 14) Sekiguchi, Y. and Yamada, T.: *Microb. Environ.*, **24**, 205 (2009).