

科学研究費助成事業「新学術領域研究（研究領域提案型）」 研究概要
〔令和6年度事後評価用〕

令和6年6月30日現在

機関番号：12102
領域設定期間：令和元年度～令和5年度
領域番号：8106
研究領域名（和文） 超地球生命体を解き明かすポストコッホ機能生態学
研究領域名（英文） Post-Koch Ecology: The next-era microbial ecology that elucidates the super-terrestrial organism system
領域代表者
高谷 直樹 (Naoki Takaya)
筑波大学・生命環境系・教授
研究者番号：50282322
交付決定額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,151,100,000 円

研究成果の概要

地表の環境や動植物と微生物が相互作用し影響を与えあっていることが明らかになってきたが、生態系における微生物の種と役割の全貌を理解されていない。本研究領域では、これを可能とする新学術領域の創成のための基盤研究として、理工学と微生物学の融合による微生物の未知種を効率的に解明する技術を創出した。また、新たなバイオインフォマティクス技術を構築し、領域が取得する畑作試験圃場における4年8輪作に渡る微生物・環境・作物データを用いた生態系モデルを構築した。得られた成果は、99%以上が未解明とされる未知微生物の分離培養や地表の生態系の全貌を理解するための基盤技術となり、生態系の微生物の種と役割の全貌の理解に貢献する。また、人類がアクセスできない目に見えない微生物の生態系の役割と生物の多様性の理解、生物機能を活用したバイオ技術の進展に貢献する。

研究分野：複合領域

キーワード：微生物、分離培養、イメージング、圃場生態、バイオインフォマティクス

1. 研究開始当初の背景

我々にとって、かけがえのない地球では、地表の水、土、大気と多様な生物が複雑に相互作用している。この中で、微生物は地球上の生きているバイオマスの15～50%を占めると言われ、種の数も動植物や昆虫をしのぐ数百万種以上と言われる。従って、微生物の種や役割を知るとは生態系を理解する上で重要である。これまでに多くの微生物が環境中から分離されてきたが、その種は地球全体の微生物の1%にも満たないことが分かってきた。これは、現在用いられている微生物の分離手法の限界のためであり、この限界を打ち破る新たな微生物の分離技術を構築することが期待されている。また、得られた微生物の種と機能の情報は莫大であるため、従来の解析手法でその役割を知るとは難しいのが現状である。

2. 研究の目的

微生物と地表の土、水、大気やヒト、動物、植物等とのかかわりについては個別に研究が進められているが、様々な環境と微生物が深くかかわっている地表の物質循環や生態系の全貌を理解するには至っていない。この理解のために、あらゆる生物と相互作用し、かつ量的にも普遍的な「微生物」を基盤とした新たな生態系を捉える学問の創出が期待されている。本研究領域では、理工学と微生物学の融合によるポストコッホ技術（項目A01）の創出によって、大部分が未解明とされる生態系の微生物種の解明のための基盤となる技術を創出する。さらに、生態学と情報学を駆使した機能インフォマティクス（項目A02）によって、微生物の種と形質（機能）を基軸とし、微生物学の祖であるコッホが見ることができなかった微生物と生態系の関わりをモデル化する研究を推進する。創出される学問分野が目指すゴールは壮大であり研究期間内で地球生態系の全て（「超地球生命体」）を解明できるわけではない。このために、モデル生態系を設定し集中して関連データを収集するとともに、情報学の新たな手法を開発する必要がある。本領域によって新たに創出されるポストコッホ機能生態学は、このゴールを導くための基盤・先駆けとなる新学問であり、持続可能な地球を創成するための環境制御と積極的なデザインの技術へと波及する。

3. 研究の方法

本領域の目的を達成するために、理工学、微生物学（A01）、生態学、情報学（A02）をそれぞれ専門とする 10 計画班を配置し、領域内での有機的な連携を目指した。中間評価までは、2 つの研究項目を構成する個別の研究基盤を構築し、その後の 3 年間でこれらの融合を本格化させる計画とした。

(1) 研究項目 A01 ポストコッホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓

未だ分離されていない大部分の“ダークマター微生物”を分離しその多様な生理的性質を解明することはブレイクスルーの一つである。そこで、本領域では、個々の研究者のセレンディピティーに基づいてきたコッホの微生物学および理工学分野の諸課題を解決し、これまで分離・解析されていない微生物の画期的な分離を担う「ポストコッホ技術」を開発し、多様な微生物の分離を進める。

① 未知の微生物の効率的な分離培養の技術の構築

環境中の未知・未培養の微生物ダークマターの分離・培養に関して想定される問題点の解決のために、従来の寒天培地を用いた手法の革新を図り、最新技術を用いたハイスループット化が課題となる。このための要素技術は、マイクロ培養（A01-1）、識別（A01-2, 3）、分離（A01-1～6）、培養化（A01-1～6）である。

② 新たな微生物の分離・培養（A02 と連携）

最終的に、全世界の年間微生物新種報告数の約半数相当の～200 種/年（新種候補を含む。正式な新種の登録には生理試験等が必要であり、専任博士研究員でも 2～3 種/年がせいぜいであるため。数値は 2019 年当時）の発見を可能とする技術基盤を構築することを目指した。本領域では、広範な微生物と複合微生物系を研究対象とするが（A01-4 一般細菌、A01-5 アーキア、A01-6 放線菌、A02-1 複合微生物）、研究の進展にあわせて圃場の作物（植物）や環境中の動物との複合系（公募班）も視野に入れた研究を展開する。バイオリソースセンター（A02-4）により分離微生物はリソース化する。また、微生物の新たな機能についても順次解明し、微生物機能の情報を拡大する。

(2) 研究項目 A02 機能インフォマティクスによるポストコッホ機能生態系の創成

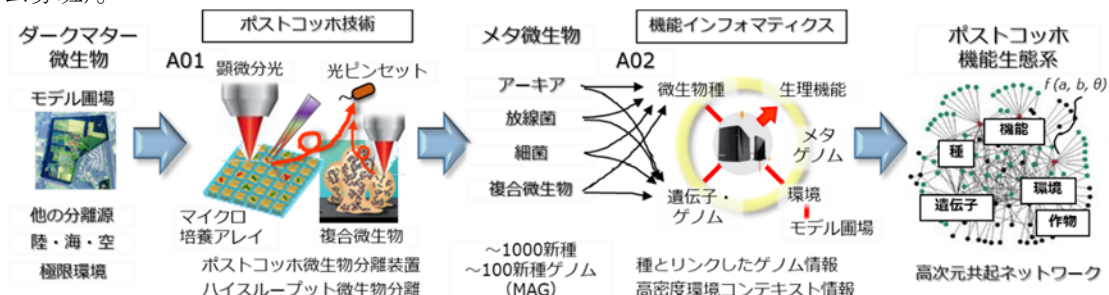
① 微生物の新たな機能（二次代謝を含む微生物代謝）の解明（A01 と連携）

微生物のゲノム遺伝子の大部分は、機能の予測が不可能な遺伝子である。従って、生態系を理解するためには、構成微生物の種に加えて、微生物の潜在機能を知ることが重要である。そこで、本研究では、微生物の新たな代謝機構（採択時の所見で指摘された二次代謝を含む）やそれを担う酵素・遺伝子を解明することを目的とした。また、近年重要とされている微生物間の相互作用の機構の解明も目指した。

② モデル圃場の生態モデルの構築

微生物の情報を活用した生態系モデルの構築のためには、長期にわたって安定なモデル環境を設定することが不可欠である。このために、基準となる生態系「モデル圃場」を設定し、領域研究者が一致団結して高密度の環境情報を蓄積する。このモデル圃場は、世界的にも稀な長期連用試験（～40 年間）により安定性が確認された理想的な連作体系の畑作試験圃場である。本研究では、施肥条件が異なる 7 試験区における 6 作物の 4 年 8 輪作の体系を対象とし、微生物叢、土壌化学、作付け・施肥、作物、気象等の情報を集積する（A02-2）。なお、本領域発足と前後して類似の取り組みが始まりつつあるが、長期安定性を持つために取得データの再現性が良いことが示され（本研究による成果）、露地栽培で生態系の解析ができる点は、国内で唯一の畑作圃場である。

設定するモデル圃場の莫大な環境情報、微生物情報、既存の微生物関連情報のデータの集積と共起解析等によって、これまで限定された微生物種のメタゲノム解析に頼ってきた生態系を、微生物の種と機能、環境情報からなる高次元からなる相関ネットワークとして理解可能な「ポストコッホ機能生態系」へと革新させる。これに際しては、既存の情報学的手法とともに多様な情報を解析するために適した新たな解析手法も開発・利用する（「機能インフォマティクス」）。また、生態系を構成する微生物複合系やウイルスの機能を推定する手法の開発にも挑戦する（A02-3、公募班）。



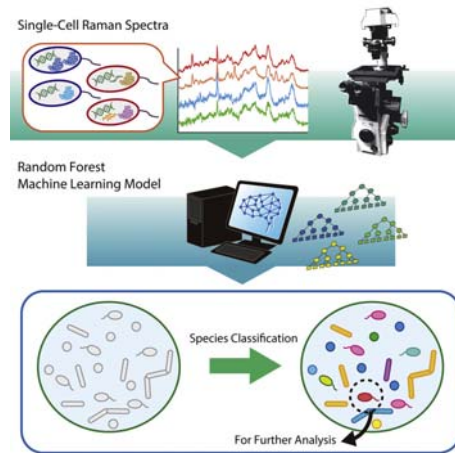
4. 研究の成果

(1) 研究項目 A01 ポストコックホ技術の創出による微生物の種多様性の開拓

① 未知の微生物の効率的な分離培養の技術の構築

これまで分離・解析されていない微生物を一つでも多く分離するためには、画期的な微生物の分離技術の構築が重要である。このために、先端的顕微ラマン分光（多波長励起ラマン顕微鏡など）、機械学習、独自のマイクロ培養デバイスを開発・融合することにより、環境中の多様な未知微生物の種と機能を非破壊的に解析できるポストコックホ技術の開発と応用を目的とした。

1 細胞ラマンデータから細菌/アーキア識別の機械学習モデルを構築し、環境中のアーキアを 1 時間あたり 1 細胞程度検出可能な解析法の開発を達成した(3, 4)。また、独自に開発したマイクロ培養デバイスを用いて、モデル圃場の土壌微生物を培養し(1, 2)、上記のラマン分光測定する一連のスキームを確立し、モデル実験系としてバイオプラスチック (PHA) やカロテノイドなどの有用物質を蓄積する微生物の検出と分離にも成功した。培養のノウハウが異なる微生物群（一般細菌、放線菌、アーキア）にこれらの技術を適応することも可能とした(6)。開発技術と既存の光マニピレーション技術とをあわせ、ターゲットにもよるが、およそ年間 30 種/研究室以上の新種候補の微生物の分離が可能と見積られる。これは、既存の微生物の分離培養技術を革新するものである。



顕微分光による特定の微生物の識別の新技術

② 新たな微生物の分離・培養 (A02 と連携)

生態系を理解するためには、生態系を構成する未解明な微生物の種を知り、その機能解析を進めることが重要である。本研究では、生態系の未培養微生物を少しでも多く分離培養し、最終的に全世界の年間微生物新種報告数の約半数相当の～200 種/年の新種候補（世界の新種記載数の 50%。研究開始当時）を発見することを目指した。

ハイスループットランダム隔離培養するマイクロ培養デバイスを用いて環境微生物を分離培養した。従来型の培養の創意工夫をあわせて～500 株の新規細菌を分離培養した。国内外の極限環境から好酸性細菌 *Acidiphilium* などを分離した。新種候補 209 種を含む希少放線菌 1629 株を単離した。これらをあわせ、新たな技術と従来法の創意工夫により 12,000 株を分離し、新種候補 1,270 種、新属以上の分類群の候補 350 株（モデル圃場からはそれぞれ 420, 190 株）を得た。これは、当初目標の～200 の新種候補株/年を超えている。さらに、微生物分類の権威である IJSEM 誌に掲載した新種は 12 属 53 種（世界の年間新規記載数の 2%以上）であった。環境中に常在する新規 RNA ウィルスやプラスミドも見出した(21)。特に、*Acidobacteriota* 門や *Verrucomicrobiota* 門の稀少系統群の分離、DPANN と呼ばれる未培養アーキアの分離培養に成功した成果は生物界に新たな界（*Nanobdella* 界）を提唱し教科書を書き換えるものである(16, 17)。

(2) 研究項目 A02 機能インフォマティクスによるポストコックホ機能生態系の創成

① 微生物の新たな機能（二次代謝を含む微生物代謝）の解明 (A01 と連携)

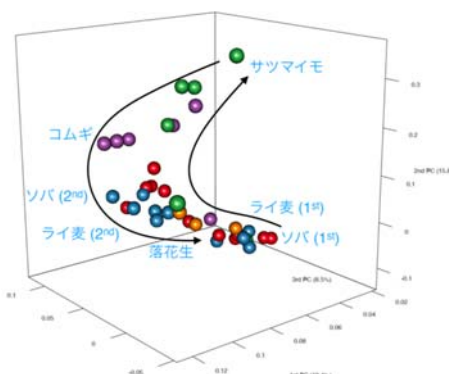
本研究では、微生物の新たな代謝機構（採択時の所見で指摘された二次代謝を含む）やそれを担う酵素・遺伝子を解明することを目的とした。また、近年重要とされている微生物間の相互作用の機構の解明も目指した。

新たな代謝と酵素に関して、アーキアのリポ酸合成に関わる新型酵素の同定、Rubisco を利用しない新たな炭酸固定経路の発見、光呼吸経路の原型がアーキアで誕生したことの発見、ATP 生成を伴うアルギニンの代謝の発見等の成果を得た。細菌によるビタミン B 群や植物配糖体の一部の分解機構を解明した。二次代謝については、放線菌のアゾ化合物の生合成する生物代謝を複数見出した。複合系相互作用に関して、これまで報告例がない多数の環境汚染物質分解菌を取得し、周囲の非分解菌との相互作用を明らかにした。微生物と環境の相互作用の研究の過程で、オイル分解における微生物と水油界面の相互作用の重要性を見出した。複数の未培養系統の微生物の共培養の確立・保存技術の構築、微生物相互作用に関わる細菌の膜小胞の新たな分泌機構を提唱した。これらはハイインパクトな雑誌に公表された(5, 8~11, 13)。

② モデル圃場の生態モデルの構築

本領域では、微生物の種と生理機能に基づいて生態系を理解する世界初のポストコックホ機能生態系のモデル化が必要である。このためのモデル圃場として畑作施肥試験圃（筑波大 TPIRC 農場）を設定・運営し、領域メンバーが集中してこの解析を行うことを目的とした。また、このモデル圃場の微生物叢・作物・環境データを 4 年間・8 輪作に渡って収集し、得られた情報を用いて微生物を中心とした生態モデルの基礎を作ることを目的とした。

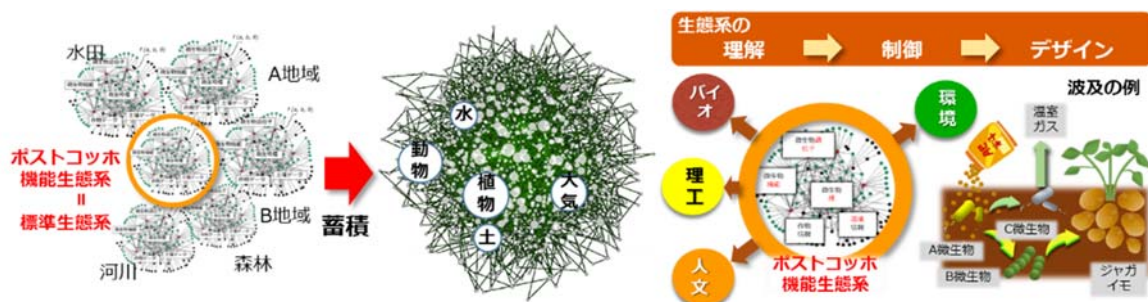
その結果、当初計画通り、7つの異なる施肥区画における4年8輪作（6作物）を運営し、作物の栽培時期毎の土壌化学、微生物叢、作物、気象情報を取得することを得ることができた。得られたデータは、連作（輪作）体系での微生物叢等として世界最大規模かつ高再現性・高精度のデータとして公表できた（BioProject: PRJDB15804; 12）。土壌試料を総括班経由で領域の構成員に配布・共有した（計140件）。得られたデータを用いたモデル圃場のモデル化も行った。このために相関ネットワークから階層的な関係を抽出する手法（Graph Splitting法、NeTaGFT法）と逆相関ネットワーク解析法を新たに開発し、微生物・環境情報ネットワークから、生態系のニッチ構造を俯瞰することを可能にした（14, 15）。また、これまでの系統比較法に微生物の機能情報を組み込んだ新たな微生物生理機能データベース「Bac2Feature」を開発した。これらをあわせて、圃場の微生物生態系の成立過程をモデル化できた。得られた成果は、連作障害の回避技術の開発等に波及する基礎データとして応用上のインパクトも高いものである。



明らかとなった輪作圃場での微生物叢の流動性と可塑性

本領域研究では、未知の微生物の効率的な分離培養の技術の構築、微生物の新たな機能の解明、モデル生態系の生態モデルの構築を可能とする基盤となる成果が得られた。これらの成果は、生態系を微生物とその機能に基づき理解するための基盤となり、将来、生態系を微生物の生理機能とあわせて理解する「ポストコッホ型の機能生態系のモデル」を導くものとなる。得られるモデルが地球規模に拡大されれば、最終的には、地球全体の環境と生態の理解・制御・デザインという革新的な学術研究に波及する。

メタゲノム解析は、環境中の微生物に由来する“既知”遺伝子の数を飛躍的に増加させるが、これらの半数以上は機能を予測できない機能未知遺伝子である。このために解析されずに捨てられてしまうことが課題となっている。この機能の解明を進めるために、微生物の新たな機能（遺伝子）を発見することにも取り組んだ。新たな微生物種と機能が拡大されれば、酵素産業、食品、農薬など微生物に関わる広範なバイオテクノロジー分野の発展とイノベーションが期待され、環境、健康、食料などの地球規模課題の解決が期待される。特に、生物・天然物資源の多様性の解明と持続的な利用、合成生物学への遺伝子パーツの供給効果は莫大である。また、微生物を扱うポストコッホ技術は、腸内細菌の機能解明、腸内細菌を用いた診断・治療の技術、脱抗生物質時代の新たな微生物制御技術の礎として医療にも貢献する。



5. 主な発表論文等（受賞等を含む）

(1) 主な雑誌論文・書籍 計523件（査読有491件、査読無32件）

① 計画研究

1. Duran, C., ... Suzuki-Minakuchi C., Nojiri, H., *Duran, R., *Sassa, F. (計9名): Low-cost gel-filled microwell array device for screening marine microbial consortium. *Front. Microbiol.*, **13**, 1031439, 2022 (A02-1, 国際共著)
2. Sassa, F., Biswas, G. C., *Suzuki, H.: Microfabricated electrochemical sensing devices. *Lab Chip*, **20**, 1358-1389, 2020
3. Kanno, N., Kato, S., Itoh, T., Ohkuma, M., Shigeto, S.: Resonance Raman analysis of intracellular vitamin B₁₂ analogs in methanogenic archaea. *Anal. Sci. Adv.*, **3**, 165-173, 2022 (A02-4 共著)
4. Kanno, N., Kato, S., Ohkuma, M., Matsui, M., Iwasaki, W., *Shigeto, S.: Machine learning-assisted single-cell Raman fingerprinting for in situ and nondestructive classification of prokaryotes. *iScience*, **24**, 102975, 2021 (A02-3, A02-4 共著)
5. Prasad, M., ... Nomura, N., ... *Utada, A. (計10名): *Alcanivorax borkumensis* Biofilms Enhance Oil Degradation By Interfacial Tubulation. *Science*, **381**, 748-753, 2023 (国際共著)
6. *Nakai, R., Kusada, H., Sassa, F., Makino, A., Morigasaki, S., Hayashi, H., Takaya, N., *Tamaki, H.: *Roseiterribacter gracilis* gen. nov., sp. nov., a novel filterable alphaproteobacterium isolated from soil using a gel-filled microwell array device. *PLoS One*, **19**, e0304366 (A01-1, A02-2 共著)

7. Eme, L., ... Nunoura, T., ... *Ettema, T. J. G. (計 25 名) : Inference and reconstruction of the heimdall-archaeal ancestry of eukaryotes. *Nature*, **618**, 992-999, 2023 (国際共著)
8. Michimori, Y., Yokooji, Y., *Atomi, H.: A energy-conserving reaction in amino acid metabolism catalyzed by arginine synthetase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **121**, e2401313121, 2024
9. *Tezuka, T., Mitsuyama, K., Date, R., *Ohnishi, Y.: A unique sigma/anti-sigma system in the actinomycete *Actinoplanes missouriensis*. *Nature Commun.*, **14**, 8483, 2023
10. Kawai, S., Hagihara, R., Shin-ya, K., *Katsuyama, Y., Ohnishi, Y.: Bacterial avenalumic acid biosynthesis includes substitution of an aromatic amino group for hydride by nitrous acid dependent diazotization. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **61**, e202211728, 2022
11. Yang, C., Han, N., Inoue, C., Yang, Y., Nojiri, H.: *Ho, Y, *Chien, M., Rhizospheric plant-microbe synergistic interactions achieve efficient arsenic phytoextraction by *Pteris vittata*. *J. Hazard. Mater.*, **434**, 128870, 2022 (国際共著)
12. Morigasaki, S., Matsui, M., ... Nakai, R., Iwasaki, W., Hayashi, H., *Takaya, N. (計 9 名): Temporal and fertilizer-dependent dynamics of soil bacterial communities in buckwheat fields under long-term management. *Sci Rep*, **14**, 9896, 2024 (A01-4, A02-3 共著)
13. Mori, T., ... *Kobayashi, M. (計 15 名): C-glycoside metabolism in the gut and in nature: Identification, characterization, structural analyses and distribution of C-C bond-cleaving enzymes. *Nature Commun.*, **12**, 6294, 2021
14. *Matsumoto, H., Matsui, M.: NeTaGFT: A similarity network-based method for trait analysis. *Methods Ecol. Evol.*, **15**, 153-163, 2024
15. Matsui, M., *Iwasaki, W.: Graph splitting, a graph-based approach for superfamily-scale phylogenetic tree reconstruction. *Syst. Biol.*, **69**, 265-279, 2020
16. Sakai, H., Nur, N., Kato, S., Yuki, M., Shimizu, M., Itoh, T., Ohkuma, M., Suwanto, A., *Kurosawa, N.: Insight into the symbiotic lifestyle of DPANN archaea revealed by cultivation and genome analyses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2115449119, 2022
17. *Kato, S., ... A., Itoh, T., ... Yuki, M., ... Ohkuma, M. (計 9 名): *Nanobdella aerobiophila* gen. nov., sp. nov., a thermoacidophilic, obligate ectosymbiotic archaeon, and proposal of *Nanobdellaceae* fam. nov., *Nanobdellales* ord. nov. and *Nanobdellia* class. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **72**, 005489 (2022)

② 公募研究

18. *Kubori, ... *Nagai, H. (計 8 名): Reversible modification of mitochondrial ADP/ATP trans-locases by paired *Legionella* effector proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2122872119, 2022
19. *Maeda, T., ... Furusawa, C. (計 9 名): High-throughput laboratory evolution reveals evolutionary constraints in *Escherichia coli*. *Nature Commun.*, **11**, 5970, 2020
20. Deng, X., Dohmae, N., Kaksonen, A. H., *Okamoto, A.: Biogenic iron sulfide nanoparticles to enable extracellular electron uptake in sulfate-reducing bacteria. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **132**, 6051-6055, 2020 (国際共著)
21. *Urayama, S., ... Nunoura, T. (計 10 名): Double-stranded RNA sequencing reveals distinct riboviruses associated with thermoacidophilic bacteria from hot springs in Japan. *Nature Microbiol.*, **9**, 514-523, 2024 (A01-5 共著)
22. *Fukunaga, T., Iwasaki, W.: Inverse Potts model improves accuracy of phylogenetic profiling. *Bioinformatics*, **38**, 1794-1800, 2022 (A02-3 共著)

(2) 受賞 計 92 件 (学会賞等 13 件、論文賞 8 件、発表賞等 62 件、他 9 件)

1. (A01-1) 佐々文洋、文部科学大臣表彰若手科学者賞「化学／生物学分析の為の BioMEMS と応用ロボット研究」(文部科学省) 令和 3 年 4 月

(3) 学会発表 計 1277 件 (一般講演 963 件、招待・基調講演 314 件)

(4) 産業財産権 計 35 件

(5) 主催シンポジウム 計 7 件 (国際シンポジウム 1 件)

ホームページ等

(1) ホームページ 計 1 件

1. 領域ホームページ (<https://postkoch.jp>)

(2) 一般向けのアウトリーチ活動 計 110 件

1. 広報誌の発刊「ポストコッホニュースレター 第 1～7 号」、パンフレットの作成
2. 「微生物の個・集団・共生が支える持続可能な社会」公開シンポジウム (領域共催) 令和 2 年 2 月 5 日 (他 一般向け講演会・セミナー 計 51 件)
3. 小中高校生向けの授業、実験、サイエンスカフェ等 計 37 件