

# 微生物ダークマターの機能を探る

生命体工学研究科生体機能応用工学専攻 教授

前田 憲成



## 1、はじめに

恩師である尾川博昭九州工業大学名誉教授の研究室に、平成12年の4月から卒業研究に着手して以来、これまで、筆者は「微生物」に関する研究に携わってきた。卒業研究では、緑膿菌によるカテコール（ベンゼン環にヒドロキシ基が二つ付いた化合物）の環開裂酵素であるカテコール・2,3-ジオキシゲナーゼの賦活化（失活した酵素が再度活性化状態になること）に関する研究に取り組んだ。この環開裂酵素は、活性部位に2価の鉄イオンを保持しており、酸素と触れる酵素抽出液ではあつという間

に酸化され、鉄イオンの価数が変化し、失活するという性質がある。緑膿菌の細胞抽出液中にはこの環開裂酵素の失活を防ぐべく、還元作用を示す微生物活性があることを見つけ、1年間の卒業研究で、その特性を調べる研究を行った。大学院では、トリニトロトルエンの微生物分解に関する研究を行い、北九州市の山田緑地の土壌を微生物源として、トリニトロトルエンを生分解できる微生物を探索した。このような有用菌の探索は、最少培地と呼ばれる、分解させたい化学物質のみを唯一の構成元素とした培地を用いて行う。つまり、栄養源が制限された培地でも生育できる菌は、同じ寒天培地上で増殖し、コロニーを形成することができる。この寒天培地上に形成されたそれぞれのコロニーは、有用分解菌の候補となる。有用分解菌としてのさらなる評価は、親化合物であるトリニトロトルエンの分解速度、すなわち生

分解特性である。有用菌株の探索のほかに、もう一つ重要な取り組みは、微生物分解経路の解明である。この研究は、もう一人の恩師である門上希和夫北九州市立大学名誉教授に大変お世話になった。門上研究室の高度な機器分析技術を活用し、トリニトロトルエンの分解産物を次々と同定し、有用菌株によるトリニトロトルエンの分解経路の解明に成功した。博士研究員では、大腸菌の水素ガスの高度生産化、細菌間コミュニケーションであるクォーラムセンシングなどに関する研究に取り組み、高度な遺伝子工学技術、代謝改変技術、タンパク質改変技術を駆使した研究成果を挙げてきた（博士研究員時代の活動の詳細は、明専会報2013・1-2月号の1-3ページを参照）。

このように、卒業研究、修士・博士論文研究、博士研究員研究と、微生物が持つ数々の面白い機能を調べる研究を進めてきた中で、酵素学、微生物学、機器分析学、遺伝子工学などは、筆者の下積みとなっている。ここでは、筆者の研究室で現在行っている活動を紹介したい。

## 2、環境微生物はダークマター

微生物は、気体、液体、固体の物質の状態で、いずれも存在している。空气中に浮遊する微生物は、1立方メートル当たり数十から数百個といわれている。また液体中にはもちろんのこと、固体上でもバイオフィルムなどを形成して、金属腐食などを起こすことが知られている。このように、微生物はあらゆる環境に存在している、すなわち環境、エネルギー、食品、人の健康などにも微生物は密接に関わっているといえる。

このような環境微生物であるが、培養できる微生物はほんの数パーセント、つまりそのほとんどは、培養が難しい難培養性微生物である。筆者の研究室では、過去にトリニトロトルエン分解菌、汚泥溶解菌、セルロース分解菌、油脂分解菌などの有用な菌株を分離してきたが、これは環境試料中に存在している微生物総数のほんの一部に焦点を当てて分離された菌株であり、同時に30パーセント〜50パーセントの微生物は「ダークマター」として、未知な微生物資源として存在している。コッ

ホの4原則として知られているように、微生物学の研究実験は純粋培養が基本であったが、微生物ダークマターの存在は、難培養性微生物の分離技術を開発していくことと複合系微生物としての機能を理解していく必要性と重要性を示している。

### 3、次世代シーケンサー技術

微生物群集の構造解析または遺伝子発現解析を可能にする技術として、次世代シーケンサー技術がある。一昔前の微生物群集構造解析は、DGEと呼ばれる、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法による標的遺伝子のGC（グアニンとシトシン）含量の違いを電気泳動における泳動距離として示し、菌叢の類似性を比較する方法である。この手法は、菌叢を電気泳動のDNAバンドのパターンのみで評価するもので、微生物群集の全体像をとらえるのは困難であった。また、遺伝子発現解析の従来技術としてはマイクロアレイ技術があるが、プローブとして固定された標的遺伝子以外の発現に関する情報が得られないという欠点がある。その一方で、次世代シーケンサー技術は、比較的

安価に、大量の塩基配列情報を一度に得ることができ、ここ50年ほどの分子生物学の歴史のなかで最も革新的な発明の一つである。得られるシーケンサーデータが膨大であるため、標的遺伝子を対象とした微生物群集構造解析では、主要な微生物種の変化しか特定できないDGE法と比べ、多数はもろんのこと、少数存在している微生物種の変化も鮮明にとらえることができる。また、遺伝子発現解析では、目的の生物種で発現しているRNAをDNA分子に変換したのちに、通常解析が進められるが、マイクロアレイ技術ではプ



研究室にある次世代シーケンサー MiSeq

ロープとの分子交雑の程度を蛍光シグナルで検出する手法である。一方、次世代シーケンサー技術では、発現している遺伝子の塩基情報をそのまま解析するという手法であるため、マイクロアレイ技術では利用できない生物種が限定されていた（プローブ設計には遺伝子情報が既知ではないといけない）のに対し、次世代シーケンサーでは、使用する生物種の制限なしで遺伝子発現の解析が可能となる。

当研究室では、この次世代シーケンサーを活用して、国際交流活動を進めているほか、先述の複合系微生物の機能または制御機構を明らかにする研究を進めている。この次世代シーケンサーによる微生物群集構造解析においては、各サンプル中の菌叢を特定できることももろんのこと、そのサンプル中に存在する生物種の豊富さを表すアルファ多様性以外にも、サンプル間の種の類似の違いを表すベータ多様性も解析でき、難培養性微生物が多い複合系微生物における機能を紐解く情報を得ることができるようになっている。

### 4、環境とヘルスケアのために微生物機能を活かす

前田研究室が目指すところは、「有用な微生物機能」を活発な社会活動に活用することであり、次の3つに貢献したいと考えている。一つ目は、海洋プラスチック問題、環境汚染問題、廃棄物問題、地球温暖化問題など、環境に対する貢献である。二つ目は、感染症対策、薬剤耐性菌など、対策ヘルスケアに対する貢献である。三つ目は、上述でも課題として挙げた、難培養性微生物の分離・探索技術、複合系微生物の機能制御技術など、環境微生物学問分野の進展に対する貢献である。これらの3つの貢献を通して、環境面と健康面の悪い状態をよい状態に変化させ、持続的な経済発展に繋げていきたいという思いで研究室を運営している。

実際に研究室で取り組んでいる具体的な研究内容は次の通りである。

(1) プラスチックの微生物分解  
環境中に放出された化石燃料由来プラスチックと生分解性プラスチックは、環境中では光や微生物などの





作用を受ける可能性がある。特に、安藤義人准教授との共同研究で行なっている新規生分解性プラスチック材料の微生物分解は、環境動態および生態系への影響を調べる上で重要である。

(2) 医薬品の微生物分解

近年、都市下水中には抗生物質、解熱剤などの医薬系物質が検出されているという報告がある。このような化学物質は本来、人体への生理活性機能が重要であるため、これらの環境中での動態、微生物分解経路などの知見は少ない。当研究室では、抗がん剤であるフルオロウラシル、ピカルタミド、および解熱剤であるアスピリンなどの化学物質を対象として、微生物分解反応を調査している。

(3) 廃棄物からのバイオエネルギー生成

排水処理過程から生成される下水汚泥は、都市部では日々大量に排出されている産業廃棄物である。現在、嫌気消化によるバイオエネルギー生成など、資源利用されているが、処理効率が低いなどの課題がある。当研究室では、微生物群集の相互作用の観点から、嫌気消化の促進と抑制に関わる微生物種を特定し、その微生物間相互作用を制御する技術開発を進めている。

(4) C1化合物変換微生物触媒

二酸化炭素やメタンなどは、温室効果ガスとなるC1化合物である。メタン菌は、水素資化性メタン生成経路により、二酸化炭素をメタンに変換することができるなど、光合成とは異なる手法で、二酸化炭素を固定できる。当研究室では、下水汚泥を微生物源として、二酸化炭素から効率的にメタンを生成できるメタン菌高集積汚泥などの微生物触媒の創製に成功している。

(5) 捕食細菌の特性調査

近年の薬剤耐性菌問題などにより、これまでの抗生物質とは異なる抗菌剤の開発が求められている。当研究室では、捕食細菌として知られるデロブリア属細菌の捕食阻害や捕食促進現象の解明に関する研究を進めている。

(6) 歯周病原菌の抑制化調査

歯周病は成人の8割が罹患する身近な感染症である。当研究室では、クオラムセンシング分子の関わりなどの着眼点で、歯周病原菌の抑制制御に関する研究を進めている。本テーマは、九州歯科大学との歯工連携プロジェクトとして、九歯大の有吉渉教授、山崎亮太助教の研究グループと共同研究を継続している。

(7) 微生物ダークマター利用

先述の通り、環境微生物には培養が難しいダークマターが多く存在していることが報告されている。当研究室では、電気培養の効果や汚泥培地での培養効果など、微生物ダークマターを刺激して利用する手法や、機能性有用微生物を分離する手法などの検討を進めている。

前田研究室では、主に7つのテーマについて、従来の微生物学的手法と次世代シーケンサー技術を活用した研究活動を進めている。

5、おわりに

筆者は、生命体工学研究科の1期生として大学院で勉学・研究に励み、

それからアメリカでの留学経験、九州工業大学生命体工学研究科の助教職での経験を通して、研究者としてのキャリアを積んだ。また准教授に昇任後は、教育業務も加わり、教育・研究者として1年1年成長してきた。2021年11月からは教授に昇任することになり、ますます大学運営に貢献していくべき立場となった。初心を忘れることなく、研究室に所属した院生のみならず、筆者自身も成長できるように、研究室運営、研究科運営、大学運営に尽力、努力していきたい。