

# アーキア界に広がるメチル化合物利用性 メタン生成アーキアの分離とその進化・生態

○春田伸<sup>1</sup>、飯野隆夫<sup>1,2</sup>

1, 東京都立大学・理・生命、2, 理研・バイオリソースセンター

## Summary

*Thermoplasma* 網メタン生成アーキアはメチル化合物利用性の新しいメタン菌グループである。本研究では、高温環境に注目し、*Thermoplasma* メタン菌の生態、多様性および代謝生理を明らかにすることを目的とした。高温嫌気消化汚泥から取得した *Thermoplasma* メタン菌についてゲノム情報を取得し解析したところ、そのゲノムサイズは1.1Mbと既報の *Thermoplasma* メタン菌のなかでも最小であり、いくつかの代謝経路に欠損があると考えられた。また日本各地の陸上温泉から温泉水が噴出する高温土壌を採取し、16S rRNA 遺伝子、メタン生成の鍵酵素遺伝子 *mcrA*、メチル化合物代謝を担う酵素遺伝子 *mtaBC* を対象とするPCRアンプリコン解析を行った結果、弱アルカリ性の高温土壌から広く *Thermoplasma* メタン菌が検出された。宮城県鬼首温泉郷からは、新属新種を含む複数系統の *Thermoplasma* メタン菌の存在が示唆された。メタノールを炭素源としてこれらメチル化合物利用性メタン菌の分離を試みたところ、新規好熱性 *Thermoplasma* メタン菌の培養に成功した。

## Background

メタン生成アーキアは、水素・二酸化炭素、酢酸やメチル化合物を炭素源、エネルギー源としてメタン生成することが知られる。多くのメタン生成アーキアが水素・二酸化炭素、酢酸を利用できるのに対して、2012年に報告された *Thermoplasma* 網の新しいメタン菌グループはメチル化合物（メタノール、メチルアミン類など）しか利用できないと考えられている。*Thermoplasma* 網メタン菌は、動物腸内や嫌気消化汚泥から見つかっているが (Paul et al. 2012, Iino et al. 2013)、純粋分離に成功した例はヒト糞便からの一例 *Methanomassiliococcus luminyensis* B10 (Dridi et al. 2012) のみであり、その生態や多様性、代謝生理については充分に分かっていない。

Paul et al. Appl. Environ. Microbiol. 78: 8245–8253 (2012)  
Iino et al. Microbes Environ. 28:244–250 (2013)  
Dridi et al. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 62:1902–1907 (2012)

Class	Order	
<i>Methanobacteria</i>	<i>Methanobacteriales</i>	Balch and Wolfe 1981
<i>Methanococci</i>	<i>Methanococcales</i>	Balch and Wolfe 1981
" <i>Methanomicrobia</i> "	<i>Methanomicrobiales</i>	Balch and Wolfe 1981
" <i>Methanomicrobia</i> "	<i>Methanosarcinales</i>	Boone et al. 2002
<i>Methanopyri</i>	<i>Methanopyrales</i>	Huber and Stetter 2002
" <i>Methanomicrobia</i> "	<i>Methanocellales</i>	Sakai et al. 2008
( <i>Thermoplasmata</i> )	<i>Methanomassiliococcales</i>	Iino et al. 2013

Microbes Environ. Vol. 28, No. 2, 244–250, 2013  
https://www.jstage.jst.go.jp/browse/jsem2 doi:10.1264/jsem2.ME12189



*Candidatus* *Methanogram* *caenicola*: a Novel Methanogen from the Anaerobic Digested Sludge, and Proposal of *Methanomassiliococcales* fam. nov. and *Methanomassiliococcales* ord. nov., for a Methanogenic Lineage of the Class *Thermoplasmata*

TAKAO IINO<sup>1</sup>\*, HIROYUKI TAMAKI<sup>1</sup>, SATOSHI TAMAZAWA<sup>1,2</sup>, YOSHIYUKI UENO<sup>1</sup>, MORIYA OHKUMA<sup>1</sup>, KEN-ICHIRO SUZUKI<sup>1</sup>, YASUO KOBARASHI<sup>1</sup>, and SHIN HARUTA<sup>1</sup>

## 高温環境における *Thermoplasma* メタン菌の生態、多様性および代謝生理

### 陸上温泉を対象にしたPCRアンプリコン解析およびメタン菌の集積培養

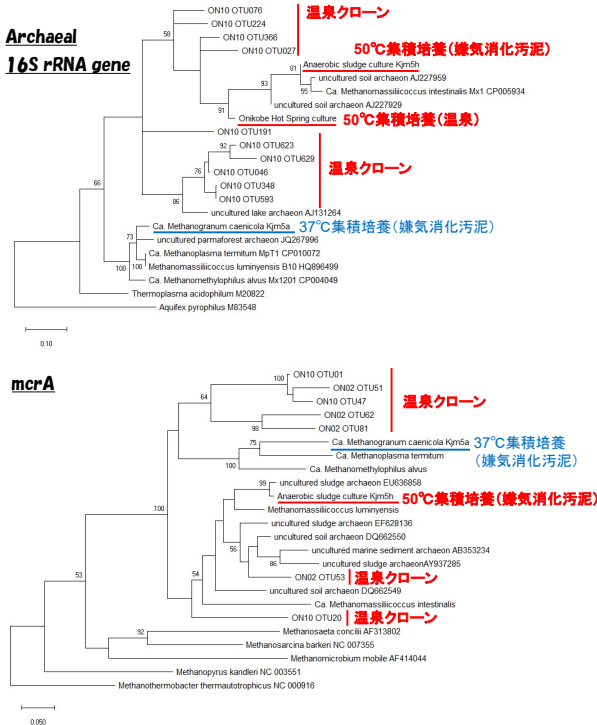
・供試材料 鬼首温泉(宮城県)熱水噴出土壤(50°C~90°C)

・アンプリコン解析 16S rRNA 遺伝子(アーキア)、メタン生成の鍵酵素遺伝子 *mcrA*、メチル化合物代謝を担う酵素遺伝子 *mtaBC*

MiSeq (Illumina) によるペアエンド法で得たデータをQIIMEで解析。

最尤法で系統樹作成。

・培養条件 主要炭素源: メタノール、気相: N<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>。培養温度: 50°Cから90°C。



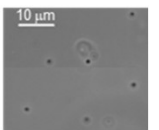
温泉土壌から、*Thermoplasma* 網と考えられる16S rRNA 遺伝子、*mcrA* 遺伝子、および *mtaBC* 遺伝子 (data not shown) が検出された。これらは複数の系統に分かれており、既報の培養株とも異なった。

温泉土壌および嫌気消化汚泥から50°Cで生育する *Thermoplasma* メタン菌が培養できた。

### 高温嫌気消化汚泥由来培養株のゲノム解析

・被験菌 *Ca. Methanogram caenicola* Kjm51a (Iino et al. 2013)

・DNBSEQ-G400 (MGI社)、GridION XS (Oxford Nanopore社)



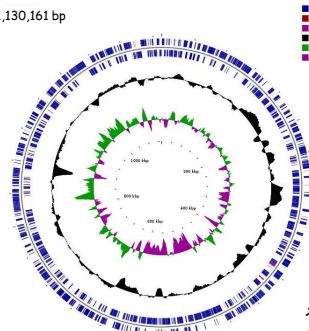
### Comparison of the genome features of *Ca. Methanogram caenicola* and other *Thermoplasma* methanogens

	<i>Ca. Methanogram caenicola</i>	<i>Methanomassiliococcus luminyensis</i> *	<i>Ca. Methanomassiliococcus intestinalis</i> *	<i>Ca. Methanoplasma termitum</i> *	<i>Ca. Methanomethylphilus alvus</i> *
分離源	高温消化汚泥	ヒト糞便	ヒト糞便	シロアリ腸内	ヒト糞便
ゲノムサイズ (Mbp)	1.1	>2.6	1.9	1.5	1.7
G+C含量 (mol%)	62.2	60.5	41.3	49.2	55.6
タンパク質コード遺伝子数	1,158	2,625	1,826	1,415	1,653
rRNA 遺伝子数	4	4	4	3	4
tRNAs 遺伝子数	43	48	46	46	48

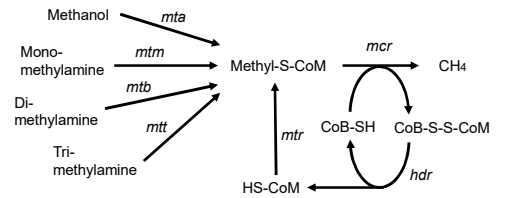
\*Lang et al. Appl. Environ. Microbiol. 81: 1338–1352 (2015)

### Genome of *Ca. Methanogram caenicola*

1,130,161 bp



### Metabolic features of *Ca. Methanogram caenicola*



メタノールに加え、モノ、ジ、トリメチルアミンの利用経路がすべて見られる一方、炭酸固定経路、芳香族アミノ酸代謝経路に欠損があると考えられた

### まとめと展望

これまで *Thermoplasma* メタン菌は主に動物腸内から見つかっていたが、本研究により、広く高温自然環境にも多様な種が分布していることが、培養法および非培養法によって明らかになった。

これらメタン菌について得られているゲノム情報はまだ少ないが、部分的な代謝経路の欠損が考えられ、他菌と強い共生関係を築いて生存している可能性がある。