
WFCC Skerman 賞受賞寄稿

アクチノバクテリアの分離，分類に関する研究

浜田盛之

(独)製品評価技術基盤機構・NBRC 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8

Studies on the isolation and taxonomy of non-filamentous actinobacteria

Moriyuki Hamada

NITE Biological Resource Center (NBRC), National Institute of Technology and Evaluation (NITE)
2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu, Chiba 292-0818, Japan

「放線菌」は伝統的に、菌糸状の形態を示す高G+C含量グラム陽性細菌の一群を示す慣用名として用いられてきており、数多くの二次代謝産物生産菌を含む有用な菌群として知られている。一方、*Actinobacteria* 門には菌糸状の形態を示さない、あるいは特定の培養条件によってのみ菌糸状に生育する分類群も数多く存在し、これらは「アクチノバクテリア」と総称されることが多い。アクチノバクテリアには、有用酵素やアミノ酸、ビタミン等の生産菌や難分解性物質分解菌などが数多く含まれ、産業上有用な菌群として知られている。しかしながら、アクチノバクテリアの選択分離手法に関する研究報告はないに等しく、効率的に分離株を得ることが困難なため、分類学的あるいは生態学的多様性の解明が遅れている分類群が数多く存在している。筆者はアクチノバクテリア、その中でも特に *Micrococcales* 目に属する菌群をターゲットとして選択分離手法の構築を行った。さらに、さまざまな環境から分離された新規性の高いアクチノバクテリアについて、多相分類学的手法を用いて研究を行い、多くの新規分類群を提唱した。

アクチノバクテリアの選択分離法の構築と分離株の多様性

これまで効率的な分離が困難であった *Micrococcales* 目を中心とした多様なアクチノバクテリアを分離できる手法の開発を目的として検討を行った。まず、多くのアクチノバクテリアが生育可能な培地を検討し、そこに真菌とグラム陰性細菌の増殖を阻害する2種の抗生物質を添加したものを基礎培地として設定した。そして、アクチノバクテリアのNaCl耐性の高さに着目し、高濃度のNaClを基礎培地に添加したものを分離培地として、希釈平板法と組み合わせることによって選択的な分離が可能であることを明らかにした。この分離手法を用いて、房総半島沿岸、利尻島、西表島およびインドネシアで採集した海洋堆積物やマングローブ域土壌からアクチノバクテリアの分離を行い、これまで未知であった海岸環境中のアクチノバクテリアの分布や多様性を明らかにするとともに、数多くの新属新種候補株を見出した。

新規アクチノバクテリアの分類学的研究と分類体系の再構築

伝統的な分類手法に加えて、細胞壁アミノ酸の異性体分析や全ゲノム配列に基づく *in silico* DNA-DNA ハイブリダイゼーション等の手法を用いて、分類学的多様性の解明が遅れているアクチノバクテリアの菌群を対象に研究を行い、これまでに *Micrococcales* 目に属する新属として *Arenivirga* 属、*Austwickia* 属、*Luteimicrobium* 属、*Lysinimicrobium* 属、*Mobilicoccus* 属、*Piscicoccus* 属、*Sediminihabitans* 属、*Serinibacter* 属、*Tropicihabitans* 属の9新属と、*Micrococcales* 目の17属にわたる計33新種を第一著者として提唱してきた。これらの新規分類群提唱株は、日本国内およびインドネシアの海洋環境やマングローブ環境、土壌、魚類の腸管など多岐にわたる環境から分離したものである。以下に3つの分類群に関する研究を例として紹介する。

- ・国内の海岸環境から *Demequinaceae* 科に属する多くの菌株を前述の分離手法を用いて分離し、詳細な分類研究を行った。その結果、唯一の既知属である *Demequina* 属とは性状の異なる株が多数存在することが明らかとなり、新属 *Lysinimicrobium* として提唱した。さらに、各分離株のドラフトゲノムデータを用いた *in silico* DNA-DNA ハイブリダイゼーションの結果や Multilocus Sequence Analysis (MLSA) から、分離株には *Demequina* 属および *Lysinimicrobium* 属の新種となることが示唆される株が多数存在することを見出した。
- ・ *Beutenbergiaceae* 科において、ペプチドグリカンのジアミノ酸が既知属とは異なり、さらにペプチドサブユニットの1位が L-serine という珍しい特徴を有することが明らかとなった株を、新属 *Serinibacter* として提唱した。この特徴はこれまでにほとんど報告がないが、筆者らはその後、他にもいくつかの属が同様の性状を有していることを明らかにした。この結果は、当初希少と思われたこの性状が、実際はアクチノバクテリアには広く分布しており、属または科レベルの新たな分類指標となりうることを示唆している。さらに、*Beutenbergiaceae* 科と近縁の *Bogoriellaceae* 科に含まれる属の間の系統関係を詳細に検討し、2つの科の再編を行った。
- ・魚の腸管から分離した2株が、*Dermatophilaceae* 科に近縁であるとはいえ、その化学分類学的性状の組み合わせや系統関係からいずれの属にも属さないことを明らかにし、それぞれを新属 *Mobilicoccus* および *Piscicoccus* として提唱した。さらに、十数年前から分類学的位置が疑問視されてきた *Dermatophilus chelonae* についても併せて詳細に検討し、新属 *Austwickia* として独立させるなど、本科の分類体系の再構築を行った。

上述のように、多くの新規分類群を提唱する過程で、*Micrococcales* 目内の科や属レベルの系統的・化学分類学的多様性を解明するとともに、いくつかの科においては既存分類体系の再構築を行い、分類学的な混乱を解消した。本研究では、新たに *in silico* DNA-DNA ハイブリダイゼーションや LCMS を用いたペプチドグリカンアミノ酸の異性体分析を導入し、アクチノバクテリアにおいて化学分類学的性状が系統分類と優れた相関性を示すことを実証した。今後は、これまでの研究成果をさらに発展させ、全ゲノム情報と放線菌のもつ豊富な表現性状を組み合わせた新たな分類体系の構築に向けて取り組んでいきたい。