

不思議な微生物，放線菌

宮道 慎二

放線菌は不思議な微生物である。バクテリアなのに糸状に生育し、分岐を繰り返す。菌糸は寒天培地中に伸長する基生菌糸と寒天表面上から大気中に伸長する気菌糸の二種類に分けられる。そして、多くの放線菌は耐久性胞子の形成能も備えている。中には、袋状の胞子嚢を形成する種類や運動性胞子を形成する種類も含まれており、胞子の形態はカビを連想するほど多様性に富んでいる^{1,2)}。図1は放線菌の走査型電子顕微鏡像（左上のみ光学顕微鏡像）で、上段が*Streptomyces*、下段がその他の放線菌（non-*Streptomyces*）である。球状～棒状の単純形態が一般的なバクテリアの中で、どうして放線菌だけがこのように多様な形態分化能を獲得してきたのだろうか。

放線菌は、現在、「order *Actinomycetales*」と定義されており³⁾、13 suborders（亜目）、43 families（科）、約200 genera（属）、約2200 species（種）により構成されている。Order（目）としては、バクテリア全体を見渡してもこれほどまでに多様化した分類群は見当たらない。どうして、放線菌だけがこのように系統的にも多様化したのだろうか。実は、200属と言っても、環境中の分布頻度はまったく不均一である。非選択的な方法で分離すると放線菌分離株のうち90%程度は*Streptomyces*属が占めることになり、頑強で生育速度も早い。その他の多くの放

線菌は、一般にひ弱で生育が遅く、純化と培養、保存も容易ではない。*Streptomyces*属だけがどうしてこのように強靱な生命力を獲得して自然界に広く分布し繁茂しているのだろうか。一方でひ弱な non-*Streptomyces*が200属にも多様化を果たし、なお、脈々と生存している現実は何を意味しているのだろうか。*Streptomyces*と non-*Streptomyces*は、明らかに異なる進化の戦略を展開してきたに相違ない。

放線菌の不思議さは、それだけではない。放線菌と言えば、抗生物質など二次代謝産物の構造と活性の多様性が広く知られている。これまでに発見された生理活性物質を含む抗生物質のうち約3分の2は放線菌の生産物だとされており、特に、*Streptomyces*の生産物は飛びぬけて多い。抗生物質の発見と実用化は、人類史を通して苦しまれてきた多くの感染症から人類を救い、20世紀最大の発明の一つとされている。また、農薬や動物薬として実用化された物質も少なくない。抗生物質の生産には生合成プロセスを保証する膨大な遺伝情報が必要であるが、バクテリアにもかかわらずどうして放線菌はこのような能力を顕著に発達させてきたのだろうか。そして、このように複雑な構造の化合物を生産することは彼らにとってどのようなメリットがあるのだろうか。

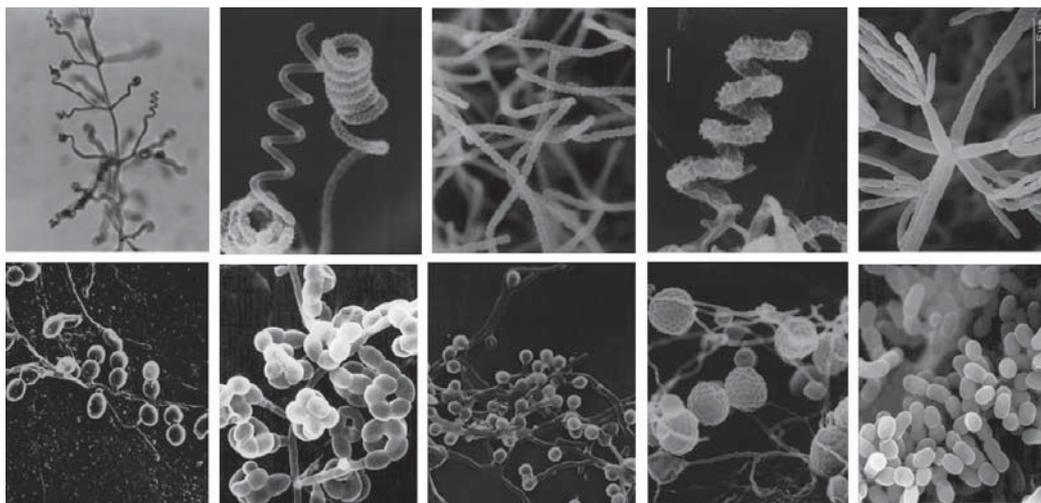


図1. 放線菌の多様な形態（上段*Streptomyces*、下段non-*Streptomyces*）。“Digital Atlas of Actinomycetes” (<http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas/>) より転載。このサイトをご覧になることで、「放線菌の世界」をお楽しみください。

一方、放線菌は「高GC含量グラム陽性細菌」と呼ばれ、細胞壁の物理的な強固さと、高GC含量に由来するDNAの化学的な強固さとを兼ね備えている。典型的な菌糸状放線菌の多くはGC含量が70%を超えているが、これにはどんな意味があるのだろうか。

実は、ここまで書いてくると現実と大きな乖離が生じてくる。放線菌200属のうち約半数の属は、ほとんど菌糸状形態をとらない球菌～多形性桿菌の典型的なバクテリアで、*Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*などがその代表と言える。生育の過程で一時的にでも糸状形態をとるかどうかは、かつて考えられていたほどの分類学的価値があるとは言えないことが分かってきた。混乱を防ぐ意味で、ここでは典型的な糸状形態の放線菌に限定して話を進めたい。

以上述べてきた通り、筆者は放線菌へのたくさんの疑問を抱えながら、いや、これらの疑問への考察をモチベーションにしながら放線菌の仕事に関わってきた。そして、「不思議な微生物、放線菌」への疑問を解くカギは、自然界で彼らがどのように生きているかを観察することが基本になると考えてきた。「ベトナム放線菌の分類と生態」および「落ち葉を分解する放線菌」に関するこの7年間の研究を振り返りながら解答への糸口を探してみたい。まず、「ベトナム放線菌の分類と生態」について述べたい。このテーマは、ベトナム国家大学ハノイ校と製品評価技術基盤機構（NITE）間で「ベトナム微生物の分類学的生態学的研究およびその利用に関する共同研究」として取り組まれた。ベトナムは熱帯/亜熱帯域に位置しており、南北に2000 kmの海岸線を有し、山岳地から低湿地まで変化に富んだ自然環境に恵まれている。本プロジェクトでは、この地に生息する多様な放線

菌を分離した後に、生物多様性条約をクリアーして日本に移転し、国内の企業や研究機関で有用性を探索して生じた利益の一部を原産国ベトナムに還元する。さらに、微生物の分類学的生態学的研究を通して関連技術を相手国に移行することを目的としたものである。具体的には、2005～2008年に年6週間ずつ現地に滞在し、図2の地図に示した5地点で土壌109検体、植物リター（落ち葉）93検体を採集し、放線菌の分離と選択を行ってきた。NITEに持ち帰って再度の純化と16S rRNA遺伝子解析に基づく同定を行い、最終的には、合計1882株をVN-A株として双方の機関で保存している。その内訳は、*Streptomyces*が1080株（57%）でnon-*Streptomyces*が802株（43%）、また、土壌分離株が1259株（67%）で植物リター分離株が623株（33%）となっている。Non-*Streptomyces*については、16S rRNA遺伝子のほぼ全長を解析したところ、19%（156株）が新種に所属すると判断された。このプロジェクトは図2に掲載したベトナムのメンバーとすべて共同で運営してきたが、彼らの表情から微生物探索のおもしろさや国を超えて組織されたプロジェクト活動の楽しさが感じとれるのではないだろうか。それでは、以下にこの活動を通して発見した興味深い3つの現象について紹介したい。

熱帯/亜熱帯と温帯の放線菌は違うのか？

海外で微生物の分離をしていると、「日本と違うのか？気候によって放線菌の分布は異なるのか？」と、しばしば質問を受けたが、明解な回答は難しかった。そのような中で、関連する論文を調べるうちにおもしろい一例を見つけることができた。表1に示した通り、同一の科に所属する2属 *Streptosporangium* と *Nonomuraea* の分離株数の比率が気候によって明確に二極化されたのだ。すな

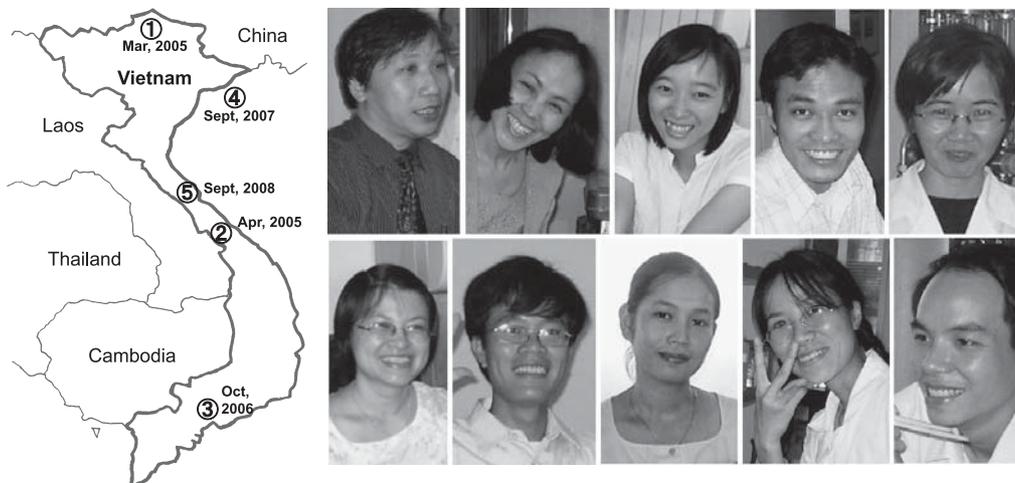


図2. サンプルング・サイトとベトナム側のプロジェクトメンバー

表1. 各緯度における *Streptosporangium* (S) と *Nonomuraea* (N) の分離株数の比較⁵⁾

地域 (緯度)	分離株数		比率 (S/S+N)	文献
	<i>Streptosporangium</i>	<i>Nonomuraea</i>		
奥多摩/日本 (北緯35度)	136	4	0.971	4
マレーシア (北緯3度)	20	69	0.225	4
ベトナム (北緯12-22度)	11	49	0.183	5
インドネシア (南緯2-8度)	15	114	0.116	6
シンガポール (北緯2度)	50	390	0.114	7
利尻島/日本 (北緯45度)	40	7	0.851	8
西表島/日本 (北緯24度)	9	21	0.3	8
御蔵島/日本 (北緯34度)	59	3	0.952	9

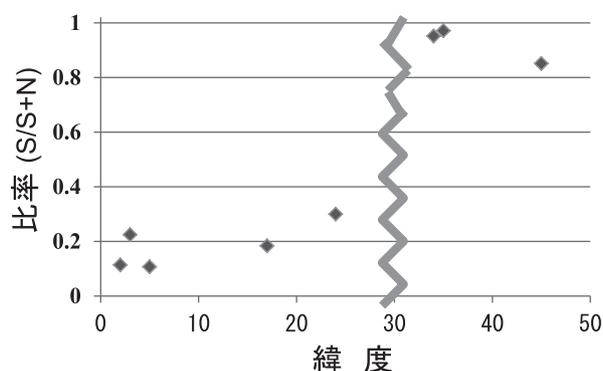


図3. *Streptosporangium* (S) と *Nonomuraea* (N) の分離株比率と緯度との相関⁵⁾

わち、温帯域 (影を配した3地域) では *Streptosporangium* が、熱帯/亜熱帯域 (5地域) では *Nonomuraea* が多く、この比率 (S/S+N) を縦軸に横軸には緯度をとってグラフ化すると、図3の通り北緯30度近辺に明瞭な変更線が存在していた。北緯30度は屋久島と奄美大島間に位置するトカラ列島を南北に隔てており、おもしろいことに動植物の分布境界線として知られる「渡瀬ライン」と重なっていた。このラインは生態学的境界線であり、動物ではニホンザルやムササビが、植物ではクリやヤナギが分布する南限とされている。今後、鹿児島本土および沖縄本島に至る離島の土壌試料について、放線菌のフロー解析を行い、生息分布に有意な差を見つけることができれば、非常に大きな発見につながると思う。これは一例に過ぎないが、熱帯/亜熱帯域と温帯域で放線菌分布に違いのある可能性が示されており、新規で有用な微生物生産物の探索源として海外の遺伝資源へのアクセスが望まれる。

放線菌における「収れん進化」の一例か？

哺乳類のイルカと魚類のサメはまったく異なる生物群なのに環境に適応した結果、類似した形態に収れんしたと考えられている。今回の研究を通して、放線菌の分野

でも同様の例を見いだすことができた。すなわち、放線菌の3属 *Actinoplanes*, *Kineosporia*, *Cryptosporangium* は、所属する family、さらにはその上位の suborder も異なっており系統的には非常にかけ離れているにもかかわらず形態が極めて類似している。これは3属が環境に適応し収れん進化した結果であると考えたのだ。発見のキッカケになったのは、表2に示したベトナム分離株の属レベルの同定結果である。薄い影を配した上部の3属は植物リターよりRC法 (運動性放線菌の選択的分離法) で高頻度に分離されており、落ち葉の分解に関与していると推定される。これに対して、その下段の suborder *Streptosporangineae* の6属は、ほぼ全ての株が土壌から多種の方法で分離されており、土壌中の難分解性有機物の分解に関与していると推定される。分解対象物という観点から見ると両者は明瞭に異なっている。そこで、自宅付近の公園を拠点にして落ち葉の分解過程について、年間を通して3属の生息推移を観察してみた。図4左上の写真は11月に撮影したサクラの落ち葉の堆積層である。落ち葉の上層はオレンジ色で乾燥しており、下層になると黒変し水分が著しく増加した。また、pHも上層が5.7-6.2、下層が6.3-6.8と異なっていた。注目の放線菌 *Actinoplanes*, *Kineosporia*, *Cryptosporangium* は上層部からはまったく分離できなかったが、下層に進むと出現し、最下層では非常に繁茂していた。さらに、3種類の植物、クヌギ、イチヨウおよびマツ (図4下) についても調べたところ、分解経過に伴って落ち葉は黒変し水分含量は増加した。放線菌3属の推移もサクラの落ち葉と同様の傾向を示し、新鮮な落ち葉からは分離できなかったが、次の段階で出現し、最終段階では高頻度に分離された。落ち葉が分解に至る生態系は、土壌動物や各種菌類の変遷と連動し放線菌も同様に推移していることがうかがえる。図4右上のイラストを用いて、これら3属と *Streptomyces* や suborder *Streptosporangineae* の6属の形態を比較してみたい。3属は寒天表面から空中に伸長する疎水性の気菌糸を形成せず、根のように寒天中に伸長する親水性の基生菌糸だけで生長するという共

表2. ベトナムで分離した放線菌の属レベルの同定結果 (一部)⁵⁾

Suborder	Family	Genus	Samples			Methods			
			Soil	Litter	Total	RC	SY	DH	OS
<i>Frankineae</i>	<i>Cryptosporangiaceae</i>	<i>Cryptosporangium</i>	3	22	25	25			
<i>Kineosporiineae</i>	<i>Kineosporiaceae</i>	<i>Kineosporia</i>	2	39	41	41			
<i>Micromonosporineae</i>	<i>Micromonosporaceae</i>	<i>Actinoplanes</i>	71	255	326	320	3	3	
<i>Streptosporangineae</i>	<i>Nocardiopsaceae</i>	<i>Nocardiopsis</i>	7		7	1	4		2
	<i>Streptosporangiaceae</i>	<i>Microbispora</i>	13		13	3	6	4	
		<i>Nonomuraea</i>	48	1	49	12	20	5	12
		<i>Sphaerisorangium</i>	7		7	3	4		
		<i>Streptosporangium</i>	11		11	1	6	2	2
	<i>Thermomonosporaceae</i>	<i>Actinomadura</i>	15		15	3	8	1	3

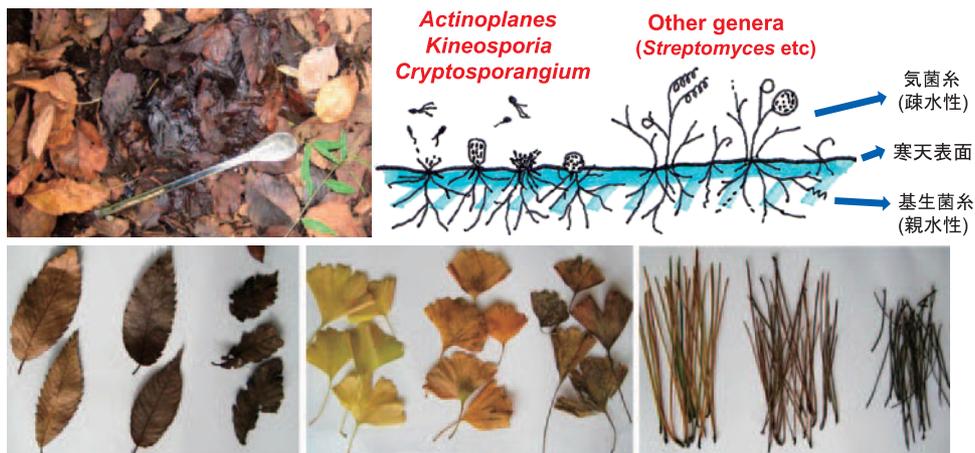
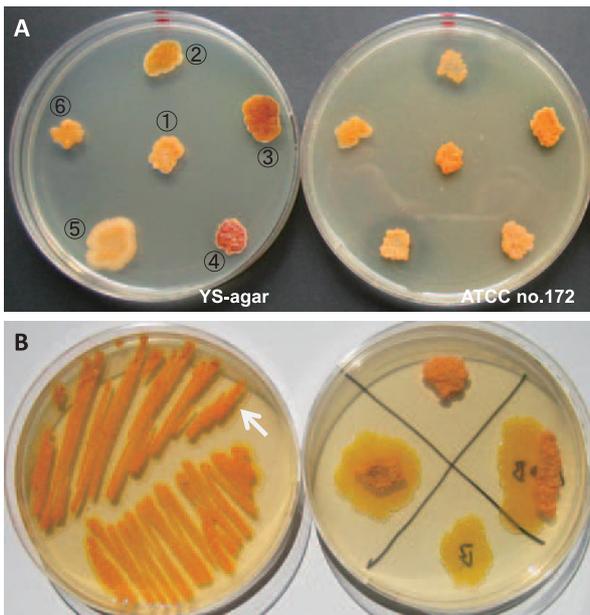


図4. 落ち葉を分解する放線菌の特徴. 上段左は堆積したサクラの落ち葉. 下段は左からクヌギ, イチョウ, マツの落ち葉で, それぞれ左から右へと分解が進んでいる. 横浜市立こども自然公園で観察.



通性を持ち, さらに3属は *Streptomyces* などと異なり胞子が運動性を有している. これらの形態的特徴は, 水分含量の多い落ち葉の下層部での生活には非常に有利と考えられる. さらに, 図5Aにも示した通りこれら3属はコロニー形態も類似しており, おもしろいことにいずれもまるで落ち葉のような色調を呈している. 系統学的には非常かけ離れている3属の形態が極めて類似しており, さらに周囲の環境と色調まで似通っているのは環境に適応し収れん進化した結果ではないだろうか. ただし, 3属の中には長期間培養すると僅かに気菌糸を形成したというケースも報告されている.

図5. 落ち葉分解性放線菌のコロニー形態. Aのプレート, ①, ②, ③は *Actinoplanes*, ④, ⑤は *Kineosporia*, ⑥は *Cryptosporangium*. また, 左の培地はYS寒天培地, 右はATCC no.172培地⁵⁾. B左のプレート: 落ち葉から分離した *Kineosporia* を広げてみると, バクテリア (矢印) がコンタミしていた. B右のプレート: 上が純化した *Kineosporia*, 下がコンタミしていたバクテリア, 左右は両者を合わせて植菌.

落ち葉で生きる放線菌とバクテリアの関係は？

落ち葉から放線菌を分離する際の厄介な問題は、執拗にコンタミしてくる特定のバクテリアの存在である。図5Bの左のプレートはサクラの落ち葉から分離した *Kineosporia* であるが、白い矢印の部分に黄色い水滴が広がっているように見える。この「べっとりした黄色い水滴」はコンタミしたバクテリアの繁殖域である。右のプレートの4つのコロニーのうち上が純化した *Kineosporia*、下がコンタミ株、左右は両者をミックスして植菌してある。当初、コンタミ株は放線菌にとってストーカーだと決めつけていたが、両者を混合植菌した左右のコロニーを見るとお互いを嫌がっている様子ではなく、むしろ、愛し合っている、あるいは共生的な関係にも見える。左のコロニーなどはバクテリアの作る風呂に放線菌が気持ちよく浸かっているようにさえ見える。自然界に思いを馳せると、このようにバクテリアの形成したバイオフィルムによって保護された空間で、放線菌がより効率的に落ち葉を分解している様子が想像される。落ち葉の分解現場は各種の微生物が多様な形で助け合いながら、あるいは生存競争しながらバランスのとれたコミュニティを形成していると考えられる。抗生物質生産の意義も、感受性と耐性を巧みに活用して共生仲間にはシグナル伝達し、逆に競合相手には毒性を示すことによって生態系を有利に保っているのではないだろうか。分類指標として活用されている脂質組成の違いなども同様に相手を認識する効果を発揮しているかも知れない。一般に化学分類学的指標は分類群ごとに共通しているので、これらのマーカーが分解対象物識別のメカニズムに関わっている可能性も考えられる。

さらに、*Streptomyces* と non-*Streptomyces* についても少しふれておきたい。最初に述べた通り、筆者は *Streptomyces* と non-*Streptomyces* では進化の戦略が異なっていると考えている。*Streptomyces* は自然界にできるだけ広く分布し分解対象物を特定せずあらゆる有機物残渣の分解に関わってきたのだろう。しかし、一方で、non-*Streptomyces* は分類群ごとに分解対象物を限定し、特定の微生物と協調しながらできるだけ効率的に対象物を分解するという方向に進化してきたのではないだろうか。このことは、液体培養が難しい non-*Streptomyces* の作る抗生物質のスクリーニングには、その分類群の分解対象物（好みの食材）を培地に添加するなどの工夫が必要であることを意味している。つまり、non-*Streptomyces* が持つ潜在的な能力を十分に引き出すためには、その分類群の好む培養方法を見つけることが肝要なのではないだろうか。

以上、3つの話題を取り上げながら放線菌の生態（生

き方）について考えてきた。最後にあらためて放線菌が自然界で果たしている役割についてまとめてみたい。有機物の分解こそ放線菌が自然界で果たしている最重要な役割である。いわば、放線菌は地球上の物質循環最終段階の主役の一員と言えよう。オゾン層が形成されて植物が上陸し、有機物の堆積が開始したのは4億数千万年前からだとされている。放線菌は有機物の種類や分解の程度、気候や水分、pH、塩濃度などの環境要因に適応し、共存する微生物と役割分担しながら共に進化し多様化してきたと考えられる。とすれば、放線菌の多様化は、10～20億年という主要な原核生物の多様化の歴史から見ると比較的新しい出来事と推定される。結局のところ、放線菌が獲得してきた形態的、系統的多様性は、生産物の多様性も含めて、物質循環という彼らの任務を遂行する上での有利さと関わっているのではないだろうか。たとえば、放線菌による落ち葉の分解過程を考えると、①胞子が出芽して葉の組織に侵入、②菌糸は伸長し分岐を繰り返して生活領域を飛躍的に拡大、③落ち葉を食べ終わると耐久性胞子を形成して次のシーズンまで数カ月でも数年でも休眠、といった合理的な生活環が備わっている。さらに、厳しい暑さや乾燥に対しては「高GCグラム陽性細菌」の物理的、化学的強さも備えており、自然界に於ける有機物残渣の分解にいかにも有利そうである。地球規模の任務遂行のため、彼らはこのような最適の性状獲得へと進化してきたに違いない。「不思議な微生物、放線菌」への疑問を解く糸口はこんなところに隠されているのではないだろうか。私見が多くなってしまったが、読者のみなさんがこの魅力ある微生物群に少しでも興味を感じていただければうれしい。更に関心のある方は、筆者らの原著 Hop *et al.*⁵⁾ も参考にさせていただきたい。

最後に、この原稿の作成に当たり貴重なアドバイスを励ましをいただいた庄村 喬、堀田国元、葛山智久、大西康夫、上田賢志、岡根 泉、小山泰正ほか多くの先生方に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 宮道ら編：放線菌図鑑，朝倉書店（1997）。
- 2) 宮道ら編：微生物の世界，p. 39，筑波出版会（2006）。
- 3) 宮道ら編：放線菌の分類と同定，毎日学術フォーラム（2001）。
- 4) Muramatsu, H. *et al.*: *Actinomycetologica*, **17**, 33 (2003).
- 5) Hop, D. V. *et al.*: *J. Antibiot.*, **64**, 599 (2011).
- 6) Lisdiyanti, P. and Otaguro, M.: In *Taxonomic and ecological studies of fungi and actinomycetes in Indonesia* (ed. Windyasturi, Y. and Ando, K.) p.601 (2010).
- 7) Wang, Y. *et al.*: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 178 (1999).
- 8) Hayakawa, M. *et al.*: *Actinomycetologica*, **24**, 1 (2010).
- 9) Ohno, M. *et al.*: In *Exploration of microorganisms in diverse environments* (ed. Harayama S.), p.154 (2008).