



New monitoring approach for metabolic dynamics in microbial ecosystems using stable-isotope-labeling technologies

安定同位体標識技術による微生物エコシステムの新規代謝動態追跡法

(JBB, Vol.110, No.1, 87 - 93, 2010)

伊達 康博¹・中西裕美子²・福田 真嗣^{2,3}・加藤 完²・
常田 聡⁴・大野 博司^{2,3}・菊地 淳^{1,2,5*}

コッホの時代から100年以上にわたり続いてきた、分離・培養を基本とした微生物純粋培養技術は、分子生態学が進展している現代においても、微生物の特徴や性質を知るための重要な解析技術の一つである。しかしながら実際の環境中においては、さまざまな微生物が雑多に存在し、「複合微生物系」を形成している。そのため、「純粋培養」という特殊な環境ではなく、実際の環境中において任意の微生物がどのような性質を有し、どのような働きをしているのかについて理解し、複合微生物系のまま微生物を人為的に制御し、産業技術へ応用したいと考える研究者も少なくないのではなかろうか。

微生物を複合微生物系のまま解析するという観点でいえば、1980年代以降における分子生態学の目覚ましい進展により、地球上に存在する微生物の種類・分布・存在量・機能などを明らかにできるようになりつつある。とりわけ、一般的な微生物群集構造解析手法を用いることで、微生物の種類・分布・存在量を容易に調べることが可能となっているが、筆者らがもっとも明らかにしたいと考えている微生物の機能や役割、すなわち、その環境中において任意の微生物がどのような能力を発揮し、何をしているのか、を明らかにすることは、いくらかの優れた手法が開発されてはいるものの、いまだ困難を伴うのが現状である。にもかかわらず、複合微生物系における微生物群の変動や代謝物の変化は、環境技術からヒトの健康まで、多くの研究分野で観察される重要な現象であり、微生物群の代謝動態を解析する技術開発が望まれていることは自明の理であった。

このような現状を鑑み、筆者らは、複合微生物系を形成している代表的な微生物群の代謝動態を追跡することが可能な新規代謝動態解析技術の開発を目的として本研究を開始した。本研究では、標識化合物の変遷を追跡することができる安定同位体標識技術に着目し、(1)安定同位体標識した基質を利用することのできる微生物が、その基質を用いて微生物体の合成を行うことにより、微生物のDNAが安定同位体で標識される性質、(2)その微生物が代謝した化合物も安定同位体で標識される性質、

の二つの性質を利用した。前述(1)においては、特定の標識基質を利用する微生物群を検出することが出来るstable isotope probing (SIP)法を基軸として、微生物の時系列的変遷を評価するためにPCR-DGGE法と組み合わせて解析した。一方、(2)に関しては、当研究室で開発したNMRプロファイリング技術を駆使し、メタボロミクス的に代謝物の変化を時系列変動データとして計測した。得られた微生物叢と代謝物の変動データを統計的に解析することで、客観的に異種データ間の統合を行った。

以上が本研究で開発した代謝動態追跡法の大まかな概要となっているが、筆者らはこの方法を、¹³Cで標識されたグルコースを用いたモデル実験系に適用し、安定同位体で標識されたDNAと標識されていないDNAをDNA-SIP法によって分離した上で、PCR-DGGE法により微生物群集構造を解析するとともに、NMRメタボロミクスにより、微生物群によって代謝された代謝産物を網羅的に測定し、複合微生物系における代謝動態の評価を行った。結果として、(1)グルコースを利用した1次利用細菌として乳酸菌を同定し、(2)乳酸菌はグルコースの代謝によって乳酸やピルビン酸を産生し、(3)その代謝物を利用して大腸菌や*Enterococcus* sp.などの2次利用細菌が増殖し、(4)さらにそれらの2次利用細菌が酢酸や琥珀酸などを代謝した、といった複合微生物系の代謝動態を明らかにすることができた。このように、グルコースの分解から始まる複合微生物系の代謝動態と微生物同士の栄養共生関係を詳細に明らかにすることが可能であった。

本手法を複合微生物系の解析ツールとして利用することで、微生物叢とその代謝産物の経時変化を追跡することが可能であり、環境技術からヒトの健康まで、種々の研究に応用が可能と考えられる。このような代謝動態解析技術はいまだ発展途上であるが、解析技術のさらなる進展により、複合微生物系のまま微生物を人為的に制御し、産業技術へ応用することが可能になるなど、多大な恩恵を得ることが期待される。

*著者紹介 ¹理化学研究所植物科学研究センター(チームリーダー) E-mail: kikuchi@psc.riken.jp

²横浜市立大学大学院、³理研RCAI、⁴早稲田大学理工学術院、⁵名古屋大学