

N₂O 還元能を持つ好熱菌の分子メカニズムの一端を解明

～深海底熱水孔環境に生息する微生物の環境浄化への活用に期待～

ポイント

- ・ 深海底熱水孔環境から高い亜酸化窒素 (N₂O) 還元能を持つ新種細菌を発見。
- ・ N₂O 還元時の遺伝子発現を経時的かつゲノムワイドに評価。
- ・ N₂O 還元酵素遺伝子 (*nosZ*) の発現と負の相関を示す転写制御因子を推定。

概要

北海道大学大学院水産科学院博士後期課程2年の土屋地郎氏（日本学術振興会特別研究員 DC2）、同大学大学院水産科学研究所の美野さやか助教、澤辺智雄教授、理化学研究所バイオリソース研究センターの市橋泰範チームリーダー、ワシントン大学海洋学部のロバート・モリス准教授らの研究グループは、沖縄トラフ深海底熱水活動域から分離された亜酸化窒素 (N₂O) 還元細菌の経時的なトランスクリプトーム解析^{*1}により、高効率な N₂O 還元活性を支える遺伝子発現プロファイルを明らかにしました。

N₂O は二酸化炭素、メタンに次ぐ温室効果ガスであり、オゾン層破壊物質としても知られることから、その削減が強く求められています。自然界に見られる唯一の生物学的 N₂O 除去反応として、脱窒が知られています。脱窒は、硝酸態窒素化合物を起点とする一連の還元反応で、その最終段階において N₂O は温室効果を持たない窒素ガス (N₂) へ還元されます。この反応は N₂O 還元酵素 (N₂OR; NosZ) を有する微生物特有の反応であることから、強い N₂O 還元活性を示す微生物資源の発掘が待たれています。

研究グループは、沖縄トラフ深海底熱水活動域から新規の好熱性細菌 HRV44^T 株を分離し、近縁種よりも N₂O を N₂ へ還元する能力が高いことを見出しました。さらに、少量の RNA からでも実施可能な遺伝子発現解析手法を構築し、経時的かつゲノムワイド^{*2} な遺伝子発現解析を実施しました。HRV44^T 株の N₂O 還元条件下での遺伝子発現動態解析等から、本菌が、N₂O 非存在下でも高いレベルで脱窒に関わる遺伝子を発現させていることを明らかにするとともに、NosZ をコードする遺伝子 (*nosZ*) の発現は転写制御因子^{*3} によって負の制御を受ける可能性を示しました。本研究成果は、N₂O 還元能を持つ微生物資源を地球環境浄化へ活用するための基礎知見となることが期待されます。

なお、本研究成果は、2020年8月15日（土）公開の iScience 誌、及び2024年9月30日（月）公開の iScience 誌に掲載されました。

【背景】

亜酸化窒素 (N_2O) は、二酸化炭素 (CO_2)、メタンに次ぐ温室効果ガスであるとともに、UV 等の物理作用により酸化されオゾン層破壊物質にも形を変えることが知られています。 N_2O は、土壌、農耕地、海洋、バイオマスの燃焼、及び各種工業過程など、自然界や人間活動から大気中に放出されます。 N_2O の大気中濃度は、産業革命以降、世界経済の成長に必要な食料や工業生産の増加と連動して増加しており、 N_2O の削減は世界規模で取り組むべき課題です。現在、地球上で知られる唯一の生物学的 N_2O 除去反応は、微生物による脱窒です。脱窒は、硝酸態窒素化合物を起点とする一連の還元反応 ($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$) で、その最終段階で N_2O は温室効果を持たない無害な窒素ガス (N_2) へ還元されます。この反応は N_2O 還元酵素 (N_2OR ; *NosZ*) を持つ微生物特有のものであることから、高い N_2O 還元活性を示す微生物資源の発掘やその分子メカニズムの解明が待たれています。本研究では、深海底熱水活動域から N_2O 還元能を持つ微生物の獲得及び N_2O 還元条件下での遺伝子発現動態を理解することを目的としました。

【研究手法】

沖縄トラフ深海底熱水活動域から採取した複数の熱水性試料を用いて、 N_2O を電子受容体とする培地でエンリッチメント培養を行った後、限界希釈法を用いた分離培養により、分離株を獲得しました。分離株の中でも特に新規性の高かった HRV44^T 株を対象に、 N_2O 還元能の評価や近縁種との比較、完全ゲノムの取得などを行いました。培養初期の僅かな細胞から抽出した RNA を用いたゲノムワイドな遺伝子発現解析を可能とするため、cDNA の PCR を介した一分子シーケンシングを用いた手法を構築しました。 N_2O 無添加及び添加 3、6、24h 後、その他条件における遺伝子発現解析及びプロテオーム解析を実施し、 N_2O 還元条件下における遺伝子発現プロファイルを取得しました (図 1)。

【研究成果】

沖縄トラフ伊平屋北熱水フィールドから、水素を電子供与体に、 N_2O を電子受容体に、 CO_2 を炭素源に利用する、化学合成独立栄養細菌 HRV44^T 株を獲得しました。本菌の N_2O 還元活性は近縁種のものとは比べて高く、これまで N_2O 還元活性が報告されていなかった特異な条件 (>50°C の高温かつ微酸性 (pH 6.0)) で高い N_2O 還元活性を示すことを明らかにしました。経時的かつゲノムワイドな遺伝子発現解析から、HRV44^T 株では、窒素酸化物の有無に関わらず、嫌気条件下では脱窒に関わる遺伝子群は恒常的に高発現していることを見出し (図 2)、その傾向はタンパク質レベルでも認められました。詳細な情報解析から、 N_2O 還元酵素をコードする *nosZ* 遺伝子の発現は、Crp/Fnr ファミリーに属する転写制御因子によって負の制御を受けている可能性を示しました。さらに、HRV44^T 株の高い N_2O 還元活性は、*nosZ* の高発現ではなく、*NosZ* への電子伝達系の活性化により支えられていることを示唆しました。

【今後への期待】

これまでに農耕地を含む様々な環境から N_2O 還元活性を示す微生物が見出されており、 N_2O 生成機構の解明に加えてその削減策が考案されています。深海底熱水活動域は未発掘の微生物 (遺伝子) 資源の宝庫であり、本研究は熱水孔環境に生息する微生物が、 N_2O の削減という観点で地球環境の改善に資する可能性を示した研究です。本研究で発見された分離株は、 CO_2 を炭素源に利用できることから、 CO_2 と N_2O の二つの温室効果ガスの同時削減に貢献できる可能性があります。温室効果ガスの削減効率が高い微生物資源の探索、その能力の最適化、それらの微生物に特異的な分子メカニズムの解明等を通して、微生物を活用した環境浄化を図る技術の開発が期待されます。

【謝辞】

本研究の一部は、日本学術振興会の科学研究費補助金 (JP15H05991、JP17K15301、JP21K14913)、特別研究員事業、海外特別研究員事業、高橋産業研究財団、公益財団法人発酵研究所の支援を受け、実施されました。

論文情報

論文名	Time course transcriptomic profiling suggests Crp/Fnr transcriptional regulation of <i>nosZ</i> gene in a N ₂ O-reducing thermophile (経時的トランスクリプトームプロファイリングから推測された N ₂ O 還元好熱菌の <i>nosZ</i> 遺伝子の Crp/Fnr 転写制御)
著者名	土屋地郎 ¹ 、美野さやか ² 、藤原風輝 ³ 、大熊直生 ³ 、市橋泰範 ³ 、Robert M Morris ⁴ 、Brook L Nunn ⁵ 、Emma Timmins-Schiffman ⁵ 、澤辺智雄 ² (¹ 北海道大学大学院水産科学院、 ² 北海道大学大学院水産科学研究院、 ³ 理化学研究所、 ⁴ ワシントン大学海洋学部、 ⁵ ワシントン大学ゲノム科学専攻)
雑誌名	iScience (オープンアクセスの総合学術誌)
DOI	10.1016/j.isci.2024.111074
公表日	2024年9月30日(月)(オンライン公開)
論文名	Biogeochemical implications of N ₂ O-Reducing thermophilic <i>Campylobacteria</i> in deep-sea vent fields, and the description of <i>Nitratiruptor labii</i> sp. nov. (深海底熱水フィールドに生息する好熱性 N ₂ O 還元 <i>Campylobacteria</i> 細菌の生物地球化学的意味と <i>Nitratiruptor labii</i> の新種提唱)
著者名	福士宗幸 ¹ (研究当時)、美野さやか ² 、田中博久 ¹ (研究当時)、中川 聡 ^{3,4} 、高井 研 ³ 、澤辺智雄 ² (¹ 北海道大学大学院水産科学院、 ² 北海道大学大学院水産科学研究院、 ³ 海洋研究開発機構 (JAMSTEC)、 ⁴ 京都大学)
雑誌名	iScience (オープンアクセスの総合学術誌)
DOI	10.1016/j.isci.2020.101462
公表日	2020年8月15日(土)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院水産科学研究院 助教 美野さやか (みのさやか)

メール sayaka.mino@fish.hokudai.ac.jp

URL <https://researchers.general.hokudai.ac.jp/profile/ja.0e0693f1626ccb94520e17560c007669.html>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

TEL 011-706-2610 FAX 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

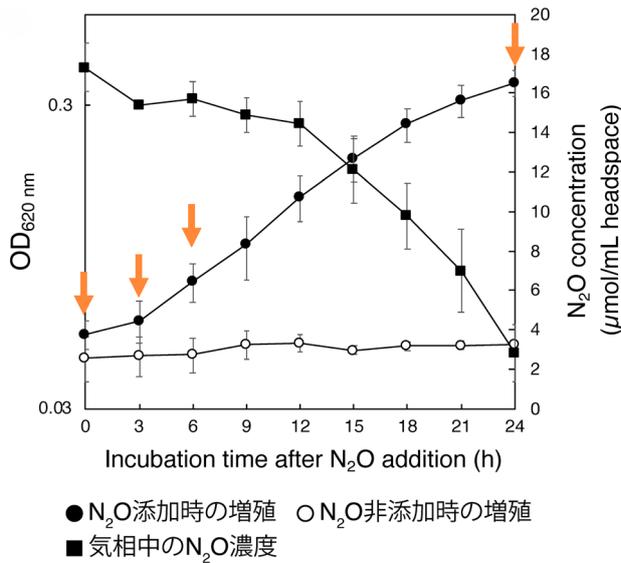


図1. HRV44^T株のN₂O消費を伴う増殖の様子。オレンジの矢印は遺伝子発現解析を実施したポイントを示す。

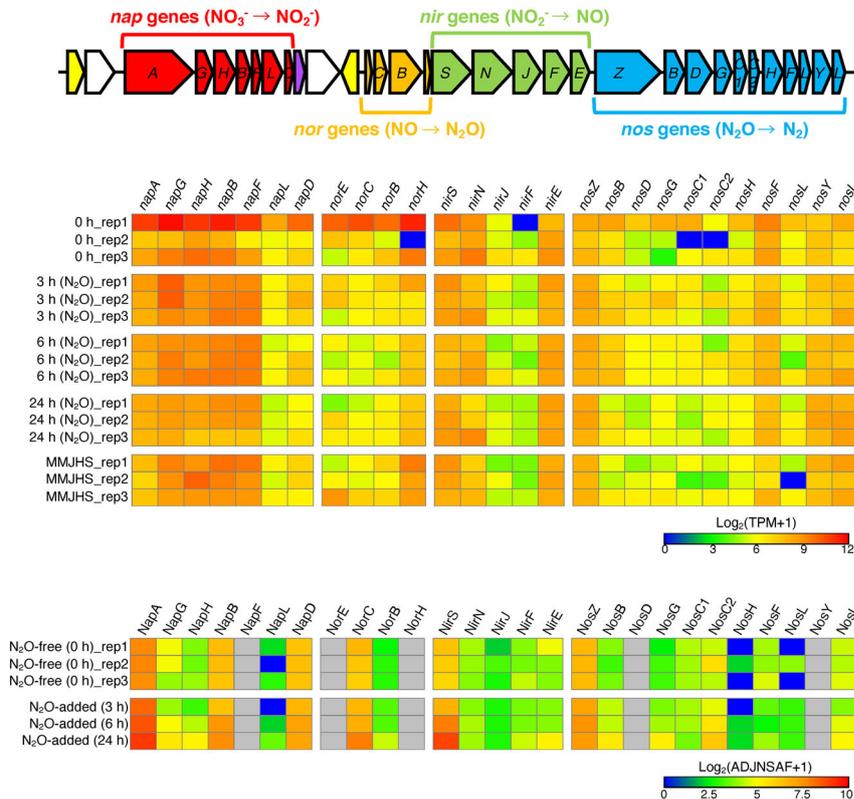


図2. HRV44^T株の脱窒に関わる遺伝子群とその発現量がN₂Oの有無によって大きく変化しないことを示す。(本論文より一部改変)

【用語解説】

- *1 トランスクリプトーム解析 … 細胞内の全転写産物（全 RNA）をトランスクリプトームと呼び、それを網羅的に解析する手法。ある条件において、どのような遺伝子や代謝系が活性化しているのかを知ることができる。
- *2 ゲノムワイド … ゲノム全域を対象とすることを指す。
- *3 転写制御因子 … 遺伝子のプロモーター領域に結合し、RNA ポリメラーゼによる転写を促進または抑制することにより、遺伝子の発現量を調節する。