

光栄養細菌の多様性 —ゲノムおよびメタゲノム解析から見えてきたもの—[‡]

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系
平石 明

1. はじめに

光栄養細菌 (phototrophic bacteria) は、光エネルギーを利用して生体膜を介したプロトンの電気化学ポテンシャル差を形成し、化学エネルギーに変換する細菌の総称である。光栄養細菌の中で炭素源として二酸化炭素を利用するものは、特に光合成細菌 (photosynthetic bacteria) と呼ばれる。実際は、多くの光栄養細菌が CO₂ 固定能をもつので、光合成細菌と光栄養細菌は同義語として使われている場合が多い。これらは、一般に細菌ドメイン (domain *Bacteria*) に属する、クロロフィル (Chl) あるいはバクテリオクロロフィル (BChl) を含有する光栄養原核生物を指す。狭義には、藍色細菌 (シアノバクテリア) を除いた光栄養細菌、すなわち、酸素非発生源型光合成を行う細菌群を指す場合もある。とはいえ、藍色細菌の分類は国際光栄養細菌分類委員会 (The Subcommittee on the taxonomy of phototrophic bacteria of the International Committee on Systematics of Prokaryotes) の管理下にあり、光栄養細菌の括りの中で分類体系が構築されている。

光エネルギーを利用する原核生物は、葉緑素型の光栄養細菌だけではない。ある種の好塩アーキアは光駆動のプロトンポンプであるバクテリオロドプシン (bacteriorhodopsin, BR) を有し、光従属栄養的に増殖する。さらに、BR 類似のプロテオロドプシン (proteorhodopsin, PR) を有する細菌も存在する。現在、これらの BR 含有アーキアや PR 含有細菌も光栄養微生物として取り扱われている。

本稿では、光栄養細菌の多様性に関してその基礎となる系統・分類体系についての現状を述べるとともに、ゲノミクス・メタゲノミクスの適用によって得られてきた多様性や生態に関する最近の知見につい

て紹介する。なお、ここでは混乱を避けるために、特記しない限り、葉緑素をもつ細菌ドメインの原核生物のみを光栄養細菌と呼ぶことにし、その他の光栄養原核生物については、適宜 BR 含有微生物、PR 含有細菌といった表現を用いる。

2. 系統・分類およびゲノミクスの現状

光栄養細菌の記載は古く19世紀後半にまでさかのぼる。それ以来、もっぱら細胞形態、酸素発生の有無、硫黄粒子の形成、培養液の色、光合成色素の型などの表現型に基づいて分類が行われてきた。糸状性酸素非発生源型光栄養細菌 (filamentous anoxygenic phototrophic bacteria、以下糸状性光栄養細菌と呼ぶ)、緑色硫黄細菌 (green sulfur bacteria)、藍色細菌 (cyanobacteria)、紅色硫黄細菌 (purple sulfur bacteria)、紅色非硫黄細菌 (purple nonsulfur bacteria) という呼称は、このような性状に基づく慣用名である。1980年代から本格化した16S rRNA の塩基配列に基づく系統・分類法は光栄養細菌にもいち早く適用され、高次分類体系の大幅な改善・再編が行われてきた。そして、2005年のバージェイズ・マニュアル第2版の出版によって、完全ではないにしろ階層分類体系がひとまず完成した。現在、糸状性光栄養細菌、緑色硫黄細菌、藍色細菌、ヘリオバクテリア、紅色細菌の各光栄養細菌は、それぞれ対応する門として分類されるに至っている (表1)。また2007年に、温泉試料のメタゲノム解析によって、アシドバクテリア門 *Acidobacteria* 内に酸素非発生源型好気性光栄養細菌 (aerobic anoxygenic phototrophic [AAP] bacteria) としての光栄養原核生物が初めて見つかった¹⁾。しかし、緑色硫黄細菌や藍色細菌の属・種については、古くから行われてきた形態や光合成色素などの

[‡] 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

* 連絡先 E-mail: hiraishi@ens.tut.ac.jp

表1 光栄養細菌の系統群

和名/慣用名	門 (phylum)	光化学系		酸素 発生	光栄養性	
		I	II		嫌気	好気
糸状性光栄養細菌	クロロフレクサス (<i>Chloroflexi</i>)	-	+	-	+	-
緑色硫黄細菌	緑色細菌 (<i>Chlorobi</i>)	+	-	-	+	-
藍色細菌	藍色細菌 (<i>Cyanobacteria</i>)	+	+	+	-*	-*
クロラシドバクテリア	アシドバクテリア (<i>Acidobacteria</i>)	+	-	-	-	+
ヘリオバクテリア	ファーミキューテス (<i>Firmicutes</i>)	+	-	-	+	-
紅色細菌	プロテオバクテリア (<i>Proteobacteria</i>)	-	+	-	+	+

* 藍色細菌は嫌気、好気に関係なく光合成を行うが、副産物として酸素を発生するので自動的に好気条件になる。

表現型分類と分子系統との不一致が解消されておらず、特に藍色細菌においては目(order)以下の分類体系については混乱している(後述)。

1996年、藍色細菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 株の全ゲノム解析データが報告された²⁾。これが光栄養細菌を対象とする全ゲノム解析の最初の例であり、全生物種の中では3番目にあたる。それ以来、藍色細菌を中心として多数の光栄養細菌株について全ゲノムデータが報告・公開されており、本稿の執筆時点で100例近くになっている。これまで報告された光栄養細菌株のゲノムサイズは1.7~9 Mbの範囲にあるが、最小、最大のゲノムとも藍色細菌の種で報告されている³⁻⁵⁾。また、メタゲノム解析からは1.44 Mbの藍色細菌のゲノムが得られている(後述)。全ゲノム解析が完了している主な酸素非発生型光栄養細菌を表2に示す。系統的には紅色非硫黄細菌および緑色硫黄細菌が多く報告されており、ヘリオバクテリアや紅色硫黄細菌の解析例はまだ少ない。

全ゲノム情報は光栄養細菌のみならず、原核生物全体の分類体系の構築に貢献するものとして大きな期待があったが、いざ蓋を開けてみると、機能不明なORFが多数存在することや系統間を越える遺伝子の水平伝播の事実が多数見いだされ、分類体系の構築に新たな課題を突き付ける形となっている。そもそも原核生物の種の概念は確立されておらず、ゲノムDNAの雑種交雑形成率の70%を便宜的な遺伝的同一種の境界としている。また、この遺伝的境界に相当する16S rRNA 遺伝子の配列は平均で98.7~99.0%であるが⁶⁾、100%の配列の相同性をもつ菌株同士であっても、70%以下のDNA-DNA交雑形成率を示す例が少なくない。過去、特に緑色硫黄細菌や藍色細菌の種は、多くが形態・培養生理学的特徴のみ、あるいは16S rRNA 遺伝子の配列のみに基づいて記載されており、分子遺伝的根拠が

希薄なまま種名が付けられた菌株を用いて全ゲノム解析が行われているものも多い。

3. 糸状性光栄養細菌

クロロフレクサス門は糸状性光栄養細菌と化学栄養細菌(chemotrophic bacteria)が混在する系統群であり、下位分類群としていくつかの綱が設定されている。光栄養細菌はすべてクロロフレクサス綱 *Chloroflexi*、クロロフレクサス目 *Chloroflexales* に集中しており、近縁の化学栄養細菌群として同綱内にヘルペトシフォン目 *Herpetosiphonales* がある。糸状性光栄養細菌は通性嫌気性の光従属栄養細菌である。光・嫌気条件下では光化学系II型のBChl *a*-結合反応中心を形成して酸素非発生型光合成を行うが、光捕集系としてクロロソームを形成するもの(*Chloroflexus*、*Chloronema*、および *Oscillochloris*)としないもの(*Heliothrix*および *Roseiflexus*)とに分けられる。クロロソームには補助色素として BChl *c* あるいは BChl *d* およびカロテノイドが含まれている。しかし、同じくクロロソームをもつ緑色硫黄細菌とは異なり、Fenna-Matthews-Olson (FMO) タンパク質を欠く。

全ゲノム解析は *Chloroflexus* および *Roseiflexus* の既知種で完了しており、硫化物酸化能がある *Chlorothrix*、*Chloronema*、*Oscillochloris* の各属菌種でも進行中である。これらの細菌のゲノムサイズは4~6 Mbであり、クロロフレクサス綱内の化学栄養細菌 *Herpetosiphon*のそれよりもやや小さい。ゲノム解析データはまだほとんど誌上発表されていないが、米国イエローストーン国立公園の温泉微生物被膜から分離された *Roseiflexus* sp. のゲノム解析では、独立栄養性を示唆するヒドロゲナーゼや3-ヒドロキシプロピオン酸回路が存在することが確認されている⁷⁾。一方、硫化物酸化活性をもつ菌 (*Oscillochloris*など)には3-ヒ

表2 全ゲノム解析が完了した主な酸素非発生型光栄養細菌^{*1}

菌種・菌株 ^{*2}	門	ゲノムサイズ (Mb)	GC 含量(mol%)	ORFの数
嫌気性光栄養細菌				
<i>Chloroflexus aurantiacus</i> J-10-fl ^T	クロロフレクサス	5.26	56.6	3,966
<i>Chloroflexus aggregans</i> DSM 9485 ^T	クロロフレクサス	4.68	56.4	3,903
<i>Roseiflexus castenholzii</i> DSM 13941 ^T	クロロフレクサス	5.72	60.7	4,559
" <i>Chlorobium chlorochromatii</i> " CaD3	緑色細菌	2.57	44.3	2,096
<i>Chlorobium limicola</i> DSM 245 ^T	緑色細菌	2.76	51.3	2,576
<i>Chlorobium phaeobacteroides</i> BS1	緑色細菌	2.74	48.9	2,611
<i>Chlorobium phaeobacteroides</i> DSM 266 ^T	緑色細菌	3.13	48.4	2,848
<i>Chlorobium phaeovibrioides</i> DSM 265 ^T	緑色細菌	1.97	53	1,870
<i>Chlorobaculum parvum</i> NCIB 8327 ^T	緑色細菌	2.29	55.8	2,133
<i>Chlorobaculum tepidum</i> TLS ^T	緑色細菌	2.15	56.5	2,340
<i>Chloroherpeton thalassium</i> ATCC 35110 ^T	緑色細菌	3.29	45	2,710
<i>Pelodictyon luteolum</i> DSM 273 ^T	緑色細菌	2.36	57.3	2,187
<i>Pelodictyon phaeoclathratiforme</i> BU-1 ^T	緑色細菌	3.02	48.1	2,969
<i>Prosthecochloris aestuarii</i> DSM 271 ^T	緑色細菌	2.51	50	2,451
<i>Heliobacterium modesticaldum</i> Ice1 ^T	ファーミキューテス	3.08	57	3,269
<i>Rhodospirillum rubrum</i> ATCC 11170 ^T	プロテオバクテリア	4.35	65.4	3,987
<i>Rhodocista centenaria</i> SW ^T	プロテオバクテリア	4.36	70.0	4,002
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> TIE-1	プロテオバクテリア	5.74	64	5,377
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> CGA009	プロテオバクテリア	5.46	65	4,921
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> BisA53	プロテオバクテリア	5.51	64.4	5,026
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> BisB5	プロテオバクテリア	4.89	64	4,549
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> BisB18	プロテオバクテリア	5.51	64	5,072
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> HaA2	プロテオバクテリア	5.33	66	4,825
<i>Rhodobacter capsulatus</i> SB1003	プロテオバクテリア	3.74	66.0	3,587
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1 ^T	プロテオバクテリア	4.13	68.8	4,372
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025	プロテオバクテリア	3.22	68.5	4,531
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029	プロテオバクテリア	4.42	69.0	4,320
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KD131	プロテオバクテリア	4.45	68.7	4,325
<i>Allochlomatium vinosum</i> DSM 180 ^T	プロテオバクテリア	3.53	64	3,190
<i>Halorhodospira halophila</i> SL1 ^T	プロテオバクテリア	2.67	68.0	2,514
好気性光栄養細菌				
<i>Acidiphilium cryptum</i> JF-5	プロテオバクテリア	3.39	67.1	3,746
" <i>Citromicrobium bathyomarinum</i> " JL354	プロテオバクテリア	3.27	65.0	3,401
<i>Dinoroseobacter shibae</i> DFL-12 ^T	プロテオバクテリア	3.79	65	4,321
<i>Erythrobacter litoralis</i> HTCC 2594	プロテオバクテリア	3.01	63.1	3,102
<i>Methylobacterium extorquens</i> PA1	プロテオバクテリア	5.47	68.2	5,012
<i>Methylobacterium extorquens</i> AM1	プロテオバクテリア	5.51	68	5,075
<i>Methylobacterium radiotolerans</i> JCM 2831 ^T	プロテオバクテリア	6.08	71.5	6,588
<i>Roseobacter denitrificans</i> OCh 114 ^T	プロテオバクテリア	4.13	59	4,229

^{*1} Genomes OnLine Database (GOLD) v 3.0 (<http://www.genomesonline.org/>) による。

^{*2} 上付きTで示した菌株はその種の基準株。引用符で囲んだ種名は非正当名の種。

ドロキシプロピオン酸回路の主要酵素はなく、炭酸固定系はカルビン回路である⁸⁾。

4. 緑色硫黄細菌

緑色細菌門 *Chlorobi* は、従来緑色硫黄細菌のみで構成される系統群と思われてきたが、緑色硫黄細菌群と深い分岐を示す化学栄養細菌イグナヴィバクテリア綱 *Ignavibacteria* が提唱され、従来の緑色硫黄細菌の種はすべて緑色細菌綱 *Chlorobea* (*Chlorobia*) として分類された⁹⁾。緑色硫黄細菌は光化学系Iの反応中心、クロロソーム、および BChl *a* 結合 FMO タンパク質を有する。また、還元型硫黄化合物を電子供与体として二酸化炭素を固定し、光無機独立栄養的に生育する。

緑色硫黄細菌のゲノムサイズは2.1~3.3 Mb (ORF数は2,000~3,000) であり、他の光栄養細菌のそれに比べると小さい (表2)。ゲノミックスの比較データからは、1,400~1,500の遺伝子が共有されていることがわかっており、その中には特徴ある光合成色素の合成経路とともに、硫化物、水素、還元鉄などの酸化能、還元的TCA回路による炭酸固定系なども確認されている。カロテノイド合成系は、他の系統の酸素非発生源型光栄養細菌よりもむしろ藍色細菌のそれに近い。一方、有機物の取り込みに関わると思われる遺伝子や転写制御の遺伝子は少なく、また、2成分系シグナル伝達ではたらくヒスチジンキナーゼを大部分欠いている。緑色硫黄細菌の大部分は光混合栄養性の性質も有しているが、ゲノミックスのデータは、これらの細菌が光無機独立栄養に特化した狭い環境条件での生育様式に進化してきたことを示している^{10,11)}。

緑色硫黄細菌は、その名の通り培養液が緑色を呈する菌種と茶色になる菌種とに大別される。これらは主要葉緑素 (BChl *c, d, e*) とカロテノイド色素の化学成分組成に由来している。従来、これらの色に関する性質や細胞形態などの表現型に基づいて種が記載されて来たため、その分類体系は分子系統やゲノム構造と一致しない部分が多い。たとえば、16S rRNA と FMO 遺伝子に基づく系統関係はほぼ一致するが、培養液の色や光合成色素の組成とは対応せず、表現型の違いもふまえて属レベルで明確な輪郭を引くことが難しくなっている。この中で、中度好熱菌 *Chlorobium tepidum* は *Chlorobium chlorovibrioides*、*Chlorobium vibrioforme* subsp. *thiosulfatophilum* とともに *Chlorobaculum* 属として再分類されている¹²⁾。

5. 藍色細菌

藍色細菌は生物の進化や多様性、そして現在の生物地球化学的循環を考える上で重要な光栄養細菌である。ゲノム解析においても光栄養生物の中で最も進んでいる。しかし、多様性研究の基盤となる藍色細菌門内の分類体系は今なお混乱している。国際細菌命名規約に照らし合わせた正当な属名も *Halospirulina*、*Planktothricoides*、*Prochlorococcus*、*Prochloron*、*Prochlorothrix*、*Rubidibacter* の6属しかない (多くは、基準株を2カ国以上の culture collection に寄託するという条件を満たしていないことによる)。この混乱ぶりは、*Synechococcus* 属とされている種・株が藍色細菌を構成する3つの分岐群 (下記) にまたがって存在していることからわかる。また、現存の *Prochlorococcus marinus* 菌株も異なる属を構成すると考えられる雑多な集団である。

藍色細菌は、ゲノム構造に基づいて *Gloeobacter* などからなる分岐群 (clade) A、*Nostoc* などが含まれる分岐群B、および *Prochlorococcus* を中心とする分岐群Cの3群に分かれることが示されている¹³⁾。その中で、39個のタンパク質がほとんどすべての種に特有なものとして見られた他、それぞれの分岐群に多くの signature が存在する。たとえば、分岐群Cのフラボタンパク質には6 aa 挿入セットが、分岐群C内の *Prochlorococcus marinus* のヘムオキシゲナーゼには2 aa 挿入セットおよびプロトクロロフィリド酸化還元酵素における1 aa 欠失セットが見られる。しかし、分岐群に特有な遺伝子の多くは機能がよくわからないタンパク質をコードしている。

各門に属する酸素非発生源型光栄養細菌が比較的狭い範囲のゲノムサイズを持つのに対し、藍色細菌のゲノムサイズは範囲が広い (上述)。これは藍色細菌が非常に多様化しながら進化して来たことを示唆している。*Prochlorococcus* は海洋において最も多数を占める藍色細菌の一つであるが、同種あるいは近縁種と思われる本属細菌においてゲノムサイズが大幅に異なることが報告されている^{3, 4)}。このようなゲノム構造の違いは、生息環境の深度に応じた異なる生態型 (ecotype) として現れている¹⁴⁾。海洋中に広く分布している UCYN-A と名付けられた藍色細菌¹⁵⁻¹⁷⁾ は、メタゲノム解析でその存在が明らかにされた。この細菌はゲノムサイズが1.44 Mb、ORF の数が1,199 しかなく、カル

ピン回路やTCA回路などの代謝機能を欠いている。さらに光化学系IIがなく光化学系Iのみの反応中心をもつ。したがって、酸素発生もしないと推察される。光合成の進化や生態的意義を考える上で興味深い生物である。

地中海において最大値の葉緑素濃度を示す深度部分のメタゲノム解析では、強光適応型の*Prochlorococcus marinus*、*Synechococcus*、*Candidatus Pelagibacter* (後述) が優占していること、そして細胞サイズの画分に多数のウイルス (シアノファージ) が存在することが報告されている¹⁸⁾。*Prochlorococcus*や*Synechococcus*に感染するウイルスは、藍色細菌由来の光合成遺伝子 (*psbA*や*hli*など) をもつが、宿主感染中にそれらの遺伝子が発現してウイルスのカプシド遺伝子と同時転写されることが明らかにされている¹⁹⁾。また、感染中には宿主の光合成遺伝子の発現量が低下する一方、ウイルスゲノムの複製が光合成機能の1つとなり、宿主による光合成関連タンパク質の生産を補っているらしい。このような宿主とウイルス間での遺伝物質の移動が双方の遺伝的および機能的な多様性に影響を与えていると考えられる²⁰⁾。

6. クロラシドバクテリア

クロラシドバクテリアは、イエローストーン国立公園のアルカリ性温泉堆積物のメタゲノム解析によって見つかったAAP細菌であり、アシドバクテリア門に属する¹⁾。光栄養細菌としてAAP細菌のみを含む系統はこれまで本門以外には知られていない。"*Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*"と名付けられたこのAAP細菌は好気条件下における集積培養で光従属栄養的に生育し、BChl *a* および BChl *c* を生合成する。また、光化学系Iの反応中心およびクロロソームをもつ。本菌から分離・生成された BChl *a* 結合 FMO タンパク質は、緑色硫黄細菌のそれとは異なる特徴ある分光特性をもつことから、この違いは好気的光栄養性を示すことと関係があるのではないかと推察されている²¹⁾。

光栄養細菌を含めて原核生物の新種の発表は、その種の純粋培養株が2カ国以上の culture collection に寄託されていることが前提となる。しかし、DNAクローン解析やメタゲノム解析が進んでくると、純粋分離は困難であるがDNAの配列上では存在が確認できる新規原核生物が多数出てくる。このような微生物に対して

は、形態や生態などの特性が明確になっている場合に限って、*Candidatus* という条件付きの学名をつけることができる²²⁾。ただし、*Candidatus* は国際細菌命名規約上にはない概念なので、新属、新種として発表することはできない。クロラシドバクテリアは*Candidatus* の概念で学名が付けられた最初の光栄養細菌である。

7. ヘリオバクテリア

ヘリオバクテリアはファーミキューテス門、クロストリディア綱 *Clostridia*、クロストリディア目 *Clostridiales* に属する絶対嫌気性之光栄養細菌であり、土壤中の嫌気的環境を主な生息域とする。光化学系Iの反応中心をもち、その電子供与体およびアンテナ色素として BChl *g* を用いている。BChl *g* は、酸素存在下で光エネルギーを吸収すると Chl *a* 様物質へと異性化することが知られている。

ヘリオバクテリアのゲノム解析は他の光栄養細菌の系統に比べると遅れている。*Heliobacterium modesticaldum* Ice1^T は 3.1 Mb の環状ゲノムと 3,138 の ORF をもつ²³⁾。このゲノム上には、カルビン回路、3-ヒドロキシプロピオン酸回路などの独立栄養性に関わる遺伝子が見当たらず、本菌が有機従属栄養性という表現型とも一致する。また、紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter capsulatus* の光合成遺伝子群に相同な遺伝子が、BChl合成酵素遺伝子を除いてほとんど見当たらない。*Heliobacterium modesticaldum* はそのゲノムサイズと合わせて、代謝機能を合理的に進化させた生物と考えられる。すなわち、光エネルギーの利用性はあるものの、他の系統の光栄養細菌とは異なり有機従属栄養性に特化した性質をもつ細菌と考えられる。厳密に言えば、本菌は光栄養細菌ではあるが光合成細菌ではないということになる。

8. 紅色細菌

嫌気的光合成を行う紅色細菌はすべてプロテオバクテリア門に属し、さらに紅色非硫黄細菌はアルファプロテオバクテリア綱 *Alphaproteobacteria* およびベータプロテオバクテリア綱 *Betaproteobacteria* に、紅色硫黄細菌はガンマプロテオバクテリア綱 *Gammaproteobacteria* に含まれる²⁴⁾。特に紅色非硫黄細菌は、光栄養細菌の中でも最も多様な生育特性をもつ菌群であり、光無機独立栄養、光無機従属栄養、光有機従属栄養、化学無機独立栄養、化学有機栄養、好気

呼吸、嫌気呼吸、発酵など、さまざまな様式で生育することができる。また、紅色細菌の一部の菌種は還元鉄^{25, 26}や亜硝酸塩を酸化する能力がある^{27, 28}。

多くの紅色細菌株において全ゲノム解析が完了しており、2.3~5.7 Mbのゲノムサイズが報告されている。ゲノムサイズは紅色非硫黄細菌よりも紅色硫黄細菌で小さい傾向があるが、解析完了株はアルファプロテオバクテリア綱の特定菌種に集中しているため、紅色細菌全体を比較するという段階までには至っていない。この中で、*Rhodospseudomonas palustris* CGA009株のゲノミクスデータは紅色非硫黄細菌の生理学的多様性を裏付けている²⁹。本菌ゲノムの15%が輸送に関する遺伝子であり、一般の細菌ゲノムにおけるそれ(5~6%)と比べると割合が高い。

Odaら³⁰は *Rps. palustris* の複数菌株(表2に示すCGA009株以下の5株)についてゲノム構造を比較した結果、同一種でありながらそれらのゲノムに多様性が見られることを報告している。しかし、この比較では本菌種の基準株が用いられておらず、そもそも解析された菌株が *Rps. palustris* であるという遺伝的根拠がない。事実、*puf* 遺伝子や16S-23S rDNA スペーサー領域を用いた比較解析では、当該の *Rps. palustris* 菌株の中で、本菌種と同定できたものはCGA009株のみであり、他の4株は *Rhodospseudomonas* 属の他菌種あるいは新種とすべき菌であった³¹。

紅色細菌の反応中心タンパク質の遺伝子 *puf* は、アルファプロテオバクテリアとベータプロテオバクテリアの間で水平伝播したことが報告されている³²。一方、紅色硫黄細菌内の菌種では、系統を反映できるマーカーとして報告されている³³。

9. AAPプロテオバクテリア

AAP細菌の研究は、1978年に好気性のメタノール酸化性細菌(現在の *Methylobacterium* 属細菌)によるBChl *a* 生産が報告されたことに端を発する。そしてほぼ同じ時期に BChl 含有の海洋性細菌 (*Erythrobacter* や現在の *Roseobacter*) が発見された。前記のクロラシドバクテリアを除けば、これまで分離されたAAP細菌はすべてプロテオバクテリア門に属している。AAP細菌の生息域を見ると貧栄養環境が多く、呼吸基質が不足しがちな生理学的状態を光エネルギーで補っていることが推察されている。たとえば、鉱山排水などの無機酸性環境に生息する亜鉛型BChl *a* をもつ *Acidiphilium*

属細菌³⁴や、外洋に広く生息する多くの海洋性AAP細菌はこの例である。

海洋性AAP細菌は、一般的な海洋の表層域に分布し、その存在量は微生物の全生物量の10%以上にまで達すると言われており、一次生産や生物地球化学的循環に重要な役割を果たしていることが指摘されている³⁵。また、AAP細菌は海底の熱水噴出孔周辺や500-2379 mの深度の高い海洋からも見ついている³⁶。深海AAP細菌である "*Citromicrobium bathyomarimum*" JF354株のゲノムは、他の海洋性AAP細菌と同様な3.3 Mbの大きさであるが、光合成遺伝子群(オペロン)を2つ持つという特徴がある³⁷。*Roseobacter denitrificans* OCh114^T株³⁸および *Dinoroseobacter shibae* DFL12^T株³⁹のゲノム解析ではカルビン回路が検出されず、光合成よりも光混合栄養あるいは光従属栄養的な代謝をもつことが示されている。

従来、海洋性AAP細菌の純粋分離株はアルファプロテオバクテリア綱に属する種しか知られていなかった。ところが、海洋表層水のメタゲノム解析の結果、ベータプロテオバクテリアやガンマプロテオバクテリアに属するものも広く生息していることが明らかとなってきた⁴⁰⁻⁴³。

9. BR含有細菌とPR含有細菌

バクテリオロドプシン(BR)は光によって活性化するプロトンポンプであり、アポタンパクであるバクテリオオプシンと発色団レチナルからなる色素タンパク質である。BR含有の高度好塩アーキアは好気性であるが、嫌気・光条件下でも生育できる。BRは当初アーキアに発見され、細菌ドメインには知られていなかった。しかし、バクテロイデス門 *Bacteroidetes* に属する *Salinibacter ruber* DSM 13855^T株の全ゲノム解析において、この細菌が4つのBR様遺伝子を含むことがわかった⁴⁴。そのうちの1つはPRと類似するが、残りの3つは好塩アーキアのBRと相同性があり、アーキアと細菌の間のドメインを越えた水平伝播が推察された。*Salinibacter ruber*のPR様構造はレチナルタンパク質とカロテノイドから成る色素タンパク複合体であり、キサントロドプシン(xanthorhodopsin)と名付けられている⁴⁵。

プロテオロドプシン(PR)は、海水由来の大量ゲノムDNA断片のメタゲノム解析からBRと似た働きをす

るタンパク質として見つかった^{46, 47)}。その後のメタゲノム解析により、海洋やその他の水域に系統的に多様なPR遺伝子が広範囲に分布していることがわかり⁴⁸⁻⁵⁰⁾、光栄養生物としてのPR含有細菌の潜在的役割が重要視されるようになった。さらに、細菌とアーキア(テルモプラズマ目 *Thermoplasmatales*) 間のPR遺伝子の水平伝播も示唆されている⁵¹⁾。

PR含有細菌として、海洋中での偏在が明らかになったSAR11群がある⁵⁰⁾。この系統群は、アルファプロテオバクテリア綱リケッチア目と系統的類縁性があり、非常に小さな細胞をもつ。"*Candidatus Pelagibacter ubique*"はSAR11群に属する細菌として初めて培養され、高圧滅菌した海水中でも、天然の海洋中でもPR遺伝子を発現することがわかった。しかし、この遺伝子は明暗のどちらの条件下で培養しても発現され、細胞の増殖速度や細胞収量には違いがなかった。PR含有細菌における光従属生育はバクテロイデス門の *Dokdonia* sp.でも観察されている⁵²⁾。

PR含有細菌の自然界での偏在性によって、光栄養生物の研究は新局面を迎えている。この点に関して課題や展望が総説されている^{53, 54)}。

10. おわりに

21世紀になって新しいDNAシーケンシングの原理に基づいたゲノムシーケンサーが登場し、低コストかつ比較的簡単にゲノム情報が得られるようになってきた。2010年の時点での原核生物の全ゲノム解析実績は、解析中のものを含めると約6,000例に達する。近い将来、光栄養細菌を含めた全ての原核生物記載種のゲノムデータが揃うことになるかもしれない。ゲノミクスおよびメタゲノミクスは、新しい藍色細菌、AAP細菌、PR含有細菌の発見とともに機能に関する様々な新情報をもたらすなど、光栄養生物に関する従来の概念や常識を塗り替えつつある。今後さらに、進化、多様性、機能、生態などを統合的に解釈できる手段としてこの分野での中心的役割を果たしていただく。

ゲノムベースでの解析は今後ますます加速されることは間違いないが、そのためには比較対照となる純粋分離株の分類と系統の整備が必要であり、微生物遺伝資源保存機関の役割がさらに重要になってくる。その上で、多様性の基盤となる種の問題についての科学的見解が深まって行くことを期待したい。

謝辞

本稿の内容の一部は、2010年3月に開催された嶋田敬三先生退官記念シンポジウム「光合成の研究が培ってきたもの」で紹介したものである。筆者と光栄養細菌との関わりにおいて、常に有意義なご助言とご指導をいただいた首都大学東京名誉教授嶋田敬三先生、ならびに本稿執筆の機会を与えていただいた首都大学東京准教授永島賢治先生に深謝の意を表す。

Received July 4, 2010, Accepted July 15, 2010, Published August 31, 2010

引用文献

- Bryant, D. A., Costas, A. M., Maresca, J. A., Chew, A. G., Klatt, C. G., Bateson, M. M., Tallon, L. J., Hostetler, J., Nelson, W. C., Heidelberg, J. F., Ward, D. M. (2007) *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*: An aerobic phototrophic acidobacterium. *Science* 317, 523-526.
- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A. *et al.* (1996) Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res.* 3, 109-136.
- Rocarp, G., Larimer, F. W., Lamerdin, J., Malfatti, S. *et al.* (2003) Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. *Nature* 424, 1042-1047.
- Dufresne, A., Salanoubat, M., Partensky, F., Artiguenave, F. *et al.* (2003) Genome sequence of the cyanobacterium *Prochlorococcus marinus* SS120, a nearly minimal oxyphototrophic genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100, 10020-10025.
- Meeks, J. C. *et al.* (2001) An overview of the genome of *Nostoc punctiforme*, a multicellular, symbiotic cyanobacterium. *Photosynth. Res.* 70, 85-106.
- Stachebrandt, E. and Ebers, J. (2006) Taxonomic parameters revised: Tarnished gold standards. *Microbiol. Today* 6, 152-155.
- van der Meer, M. T., Klatt, C. G., Wood, J., Bryant, D. A., Bateson, M. M., Lammerts, L., Schouten, S., Damsté, J. S., Madigan, M. T., and Ward, D. M. (2010) Cultivation and genomic, nutritional, and lipid biomarker characterization of *Roseiflexus* strains closely related to predominant in situ populations inhabiting Yellowstone hot spring microbial mats. *J. Bacteriol.* 192, 3033-3042.
- Turova, T. P., Spiridonova, E. M., Slobodova, N. V., Bulygina, E. S., Keppen, O. I., Kuznetsov, B. B., and

- Ivanovskii, R. N. (2006) Phylogeny of anoxygenic filamentous phototrophic bacteria of the family *Oscillochloridaceae* as inferred from comparative analyses of the *rrs*, *cbbL*, and *nifH* genes. *Mikrobiologiia*, 75, 235-244.
9. Iino, T., Mori, K., Uchino, Y., Nakagawa, T., Harayama, S., and Suzuki, K. (2010) *Ignavibacterium album* gen. nov., sp. nov., a moderately thermophilic anaerobic bacterium isolated from microbial mats at a terrestrial hot spring and proposal of *Ignavibacteria* classis nov., for a novel lineage at the periphery of green sulfur bacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 1376-1382.
 10. Chew, A. G., Li, H., Maresca, J. A., and Bryant, D. A. (2003) *Chlorobium tepidum*: insights into the structure, physiology, and metabolism of a green sulfur bacterium derived from the complete genome sequence. *Photosynth Res.* 78, 93-117.
 11. Frigaard, N.-U. and Bryant, D. A. (2004) Seeing green bacteria in a new light: genomics-enabled studies of the photosynthetic apparatus in green sulfur bacteria and filamentous anoxygenic phototrophic bacteria. *Arch. Microbiol.* 182, 265-276.
 12. Imhoff, J. F. (2003) Phylogenetic taxonomy of the family *Chlorobiaceae* on the basis of 16S rRNA and *fmo* (Fenna-Matthews-Olson protein) gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 941-951.
 13. Gupta, R. S. and Divya W Mathews, D. W. (2010) Signature proteins for the major clades of Cyanobacteria. *BMC Evol. Biol.* 10, 24., January 25 published online.
 14. Delong, E. Preston, C. M., Mincer, M. *et al.* (2006) Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior. *Science* 311, 496-503.
 15. Zehr, J. P., Bench, S. R., Carter, B. J., Hewson, I., Niazi, F., Shi, T., Tripp, H. J., and Affourtit, J. P. (2008) Globally distributed uncultivated oceanic N₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem II. *Science* 322, 1110-1112.
 16. Tripp, H. J., Bench, S. R., Turk, K. A., Foster, R. A., Desany, B. A., Niazi, F., Affourtit, J. P., and Zehr, J. P. (2010) Metabolic streamlining in an open-ocean nitrogen-fixing cyanobacterium. *Nature* 464, 90-94.
 17. Moisaner, P. H., Beinart, R. A., Hewson, I., White, A. E., Johnson, K. S., Carlson, C. A., Montoya, J. P., and Zehr, J. P. (2010) Unicellular cyanobacterial distributions broaden the oceanic N₂ fixation domain. *Science* 327, 1512-1514.
 18. Ghai, R., Martin-Cuadrado, A.-B., Molto, A. G. *et al.* (2010) Metagenome of the Mediterranean deep chlorophyll maximum studied by direct and fosmid library 454 pyrosequencing. *ISME J.* April 15 published online.
 19. Lindell, D., Jaffe, J. D., Johnson, Z. I., Church, G. M., and Chisholm, S. W. (2005) Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection. *Nature* 438, 86-89.
 20. Coleman, M. L., Sullivan, M. B., Martiny, A. C., Steglich, C., Barry, K., Delong, E. F., and Chisholm, S. W. (2006) Genomic islands and the ecology and evolution of *Prochlorococcus*. *Science* 311, 1768-1770.
 21. Tsukatani, Y., Wen, J., Blankenship, R. E., and Bryant, D. A. (2010) Characterization of the FMO protein from the aerobic chlorophototroph, *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*. *Photosynth. Res.* 104, 201-209.
 22. Murray, R.G.E. and Schleifer, K.H. (1994) Taxonomic notes: a proposal for recording the properties of putative taxa of procaryotes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44, 174-176.
 23. Sattley, W. M., Madigan, M. T., Swingley, W. D. *et al.* (2008) The genome of *Heliobacterium modesticaldum*, a phototrophic representative of the *Firmicutes* containing the simplest photosynthetic apparatus. *J. Bacteriol.* 190, 4687-4696.
 24. Imhoff, J. F., Hiraishi, A., and Suling (2005) Anoxygenic phototrophic purple bacteria. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Vol. 2, The *Proteobacteria*, Part A Introductory Essays, ed. by D. J. Brenner, N. R. Krieg, and J. T. Staley, Editor-in-Chief G. M. Garrity, Springer, pp. 119-132.
 25. Widdel, F., Schnell, S., Heising, S., Ehrenreich, A., Assmus, B., and Schink, B. (1993) Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Nature* 362, 834-836.
 26. Hegler, F., Posth, N. R., Jiang, J., and Kappler, A. (2008) Physiology of phototrophic iron(II)-oxidizing bacteria: implications for modern and ancient environments. *FEMS Microbiol Ecol.* 66, 250-260.
 27. Griffin, B. M., Schott, J., Schink, B. (2007) Nitrite, an electron donor for anoxygenic photosynthesis. *Science* 16, 1870.
 28. Schott, J., Griffin, B. M., Schink, B. (2010) Anaerobic phototrophic nitrite oxidation by *Thiocapsa* sp. strain KS1 and *Rhodospseudomonas* sp. strain LQ17. *Microbiology* May 6 published online.
 29. Larimer, F. W., Chain, P., Hauser, L. *et al.* (2005) Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris*. *Nat. Biotechnol.* 22, 55-61.
 30. Oda, Y., Larimer, F. W., Chain, P. S. *et al.* (2008) Multiple genome sequences reveal adaptations of a phototrophic bacterium to sediment microenvironments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 18543-18548.
 31. Okamura, K., Takata, K., and Hiraishi, A. (2009) Intrageneric relationships of members of the genus *Rhodospseudomonas*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 55, 469-478.
 32. Igarashi, N., Harada, J., Nagashima, S., Matsuura, K., Shimada, K., and Nagashima, K. V. (2001) Horizontal transfer of the photosynthesis gene cluster and operon rearrangement in purple bacteria. *J. Mol. Evol.* 52, 333-341.
 33. Tank, M., Thiel, V., and Imhoff, J. F. (2009) Phylogenetic relationship of phototrophic purple sulfur

- bacteria according to *pufL* and *pufM* genes. *Int. Microbiol.* 12, 175-185.
34. Hiraishi, A. and Shimada, K.: Aerobic anoxygenic photosynthetic bacteria with zinc bacteriochlorophyll. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 47, 161 (2001).
 35. Kolber, Z. S., Plumley, F. G., Lang, A. S., Beatty, J. T., Blankenship, R. E., VanDover, C. L., Vetriani, C., Koblizek, M., Rathgeber, C., and Falkowski, P. G. (2001) Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean. *Science* 292, 2492-2495.
 36. Rathgeber, C., M. T. Lince, J. Alric, A. S. Lang, E. Humphrey, R. E. Blankenship, A. Vermeglio, F. G. Plumley, C. L. Van Dover, J. T. Beatty, and V. Yurkov, V. (2008) Vertical distribution and characterization of aerobic phototrophic bacteria at the Juan de Fuca Ridge in the Pacific Ocean. *Photosynth. Res.* 97, 235-244.
 37. Jiao, N., Zhang, R., and Zheng, Q. (2010) Coexistence of two different photosynthetic operons in *Citromicrobium bathyomarinum* JL354 as revealed by whole-genome sequencing. *J. Bacteriol.* 192, 1169-1170.
 38. Swingley, W. D., Sadekar, S., Mastrian, S. D. *et al.* (2007) The complete genome sequence of *Roseobacter denitrificans* reveals a mixotrophic rather than photosynthetic metabolism. *J. Bacteriol.* 189, 683-690.
 39. Wagner-Döbler, I., Ballhausen, B., Berger, M. *et al.* (2009) The complete genome sequence of the algal symbiont *Dinoroseobacter shibae shibae*: a hitchhiker's guide to life in the sea. *ISME J.* 4, 61-77.
 40. Béjà, O., Suzuki, M. T., Heidelberg, J. F., Nelson, W. C., Preston, C. M., Hamada, T., Eisen, J. A., Fraser, C. M., and DeLong, E. F. (2002) Unsuspected diversity among marine aerobic anoxygenic phototrophs. *Nature* 415, 630-633.
 41. Yutin, N., Suzuki, M. T., Teeling, H., Weber, M., Venter, J. C., Rusch, D. B., and Béjà, O. (2007) Assessing diversity and biogeography of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in surface waters of the Atlantic and Pacific Oceans using the Global Ocean Sampling expedition metagenomes. *Environ Microbiol.* 9, 1464-1475.
 42. Cho, J. C., Stapels, M. D., Morris, R. M., Vergin, K. L., Schwalbach, M. S., Givan, S. A., Barofsky, D. F., and Giovannoni, S. J. (2007) Polyphyletic photosynthetic reaction centre genes in oligotrophic marine Gammaproteobacteria. *Environ Microbiol.* 9, 1456-1463.
 43. Fuchs, B. M., Spring, S., Teeling, H., Quast, C., Wulf, J., Schattenhofer, M., Yan, S., Ferriera, S., Johnson, J., Glöckner, F. O., and Amann, R. (2007) Characterization of a marine gammaproteobacterium capable of aerobic anoxygenic photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104, 2891-2896.
 44. Mongodin, E. F., Nelson, K. E., Daugherty, S. *et al.* (2005) The genome of *Salinibacter ruber*: convergence and gene exchange among hyperhalophilic bacteria and archaea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 18147-18152.
 45. Balashov, S. P., Imasheva, E. S., Boichenko, V. A., Antón, J., Wang, J. M., Lanyi, J. K. (2005) Xanthorhodopsin: a proton pump with a light-harvesting carotenoid antenna. *Science* 309, 2061-2064.
 46. Béjà, O., Aravind, L., Koonin, E. V. *et al.* (2000) Bacterial rhodopsin: evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science* 289, 1902-1906.
 47. Béjà, O., Spudich, J. L., Spudich, E. N., Leclerk, M., DeLong, E. F. : Proteorhodopsin phototrophy in the ocean. *Nature*, 411, 786-789 (2001).
 48. Venter, J. C., Remington, K., Heidelberg, J. F., Halpern, A. L. *et al.* (2004) Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* 304, 66-74.
 49. Giovannoni, S. J., Tripp, H. J., Givan, S. *et al.* (2005) Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. *Science* 309, 1242-1245.
 50. Giovannoni, S. J., Bibbs, L., Cho, J. C. *et al.* (2005) Proteorhodopsin in the ubiquitous marine bacterium SAR11. *Nature* 438, 82-85.
 51. Frigaard, N.-U., Martinez, A., Mincer, T. J., and DeLong, E. F. (2006) Proteorhodopsin lateral gene transfer between marine planktonic Bacteria and Archaea. *Nature* 439, 847-850.
 52. Gómez-Consarnau, L., González, J. M., Coll-Lladó, M., Gourdon, P., Pascher, T., Neutze, R., Pedrós-Alió, C., and Pinhassi, J. (2007) Light stimulates growth of proteorhodopsin-containing marine Flavobacteria. *Nature* 445, 210-213.
 53. Bryant, D. A. and Frigaard, N.-U. (2006) Prokaryotic photosynthesis and phototrophy illuminated. *Trends Microbiol.* 14, 488-496.
 54. DeLong, E. F. and Béjà, O. (2010) The light-driven proton pump proteorhodopsin enhances bacterial survival during tough times. *PLoS Biol.* 8, e1000359.

Biodiversity of Phototrophic Bacteria as Revealed by Genomic and Metagenomic Approaches

Akira Hiraishi*

Department of Environmental and Life Sciences, Toyohashi University of Technology