



温泉科学 (J. Hot Spring Sci.), 75, 187-193 (2025)

日本温泉科学会第 78 回大会

特別講演 II

酸性温泉から分離した絶対寄生性アーキアの性状解析

酒 井 博 之¹⁾

(令和 7 年 10 月 17 日受付, 令和 7 年 11 月 6 日受理)

Characterization of Obligate Parasitic Archaea Isolated from Acidic Hot Springs

Hiroyuki D. SAKAI¹⁾

Abstract

Numerous microorganisms in natural environments remain uncultivated, and their physiology and ecology are still largely unknown. Recent advances in environmental DNA analyses have enabled the acquisition of genomic information from such uncultivated microorganisms without cultivation. However, genomic data alone are often insufficient to fully elucidate their physiology and ecological functions. Over the past decade, I have attempted to cultivate previously uncultivated microorganisms together with co-researchers and have succeeded in obtaining several obligate symbiotic archaea of the *Nanobdellati* (DPANN). In this report, I describe two phylogenetically distinct members of *Nanobdellati*—*Microcaldus variisymbioticus* ARM-1^T and '*Nanofervidus parviconus*' YN1—both isolated from acidic hot springs. Although both strains exhibit obligate dependence on their hosts, their host specificity differs. Specifically, ARM-1^T can utilize multiple host species as a host, whereas YN1 depends exclusively on a single host species. Cryo-electron microscopy has revealed that their interactions with host cells are structurally distinct, highlighting two contrasting strategies of host association within *Nanobdellati*. These findings provide important insights into the diversity and evolution of parasitic mechanisms in *Nanobdellati* archaea. Further cultivation efforts, combined with advanced analytical technologies such as cryo-electron microscopy, are expected to deepen our understanding of the unique ecology and interspecies interactions of these enigmatic archaea.

Key words : DPANN, *Nanobdellati*, *Sulfolobales*, Thermoacidophiles, Archaea, Obligate symbionts

¹⁾ 国立研究開発法人理化学研究所 バイオリソース研究センター 微生物材料開発室 〒305-0074 茨城県つくば市高野台 3-1-1. ¹⁾ ARIKEN BioResource Research Center, Japan Collection of Microorganisms, 3-1-1 Koyadai, Tsukuba, Ibaraki 305-0074, Japan. E-mail hiroyuki.sakai.vs@riken.jp, TEL 029-829-9104.

要 旨

自然環境中には、いまだ培養されておらず性状がほとんど未知の微生物が数多く存在する。近年の環境 DNA 解析により、培養せずとも未培養微生物のゲノム情報を取得することが可能となったが、ゲノム情報のみではそれらの真の生理生態を理解することは困難である。著者は、共同研究者らとともに、酸性温泉を分離源として 10 年以上にわたり新規温泉微生物の分離培養を試みてきた。その過程で、難培養性の絶対共生性アーキア (*Nanobdellati*) を多数、それらの宿主とともに培養することに成功した。本報告では、系統学的に異なる 2 つの系統に属する *Microcaldus variisymbioticus* ARM-1^T 株および '*Nanofervidus parviconus*' YN1 株の性状について紹介する。両株はいずれも宿主に依存して増殖する絶対寄生菌であるが、ARM-1^T 株は複数の宿主を利用して増殖可能であるのに対し、YN1 株は特定の宿主にのみ依存して増殖する。また、クライオ電子顕微鏡観察により、両株の宿主との微生物間相互作用の機構は明確に異なることが示された。これらの知見は、*Nanobdellati* アーキアにおける寄生機構の多様性や進化を理解するうえで重要な洞察を与えるものであり、今後、さらなる培養株の拡充と最先端解析技術の活用を通じて *Nanobdellati* アーキアの未知の生態が一層明らかになっていくことが期待される。

キーワード：ナノブデラティ、ディーパン、スルフォロバレス、好熱好酸性菌、アーキア、絶対共生菌

1. はじめに

近年、培養に依存しない環境 DNA 解析により、自然環境中には極めて多様な未培養微生物が存在することが明らかとなった (Castelle and Banfield, 2018)。その一つである *Nanobdellati* (別名 DPANN) は、全アーキア種の約半数を占める超巨大系統群であり、小型ゲノム (0.5~1 Mbp) と極小細胞 (直径 300~600 nm) を特徴とする。それらの多くは一般的な微生物が増殖するために必要な遺伝子をもたないため、他の微生物、すなわち宿主に依存して増殖する絶対共生性または寄生性のアーキアだと推定されている。実際に、これまでに培養された *Nanobdellati* アーキアはすべて宿主との共培養下でのみ増殖する。しかし、培養例が極めて少なく、その生理生態には多くの不明な点が残されている。

これまで著者は、独自の手法を用いて酸性温泉から新規好熱好酸性アーキアの分離培養を試み (Sakai and Kurosawa, 2016; 黒澤ら, 2019; 宮林ら, 2021)、培養実験を通じてそれらの生物学的特徴を明らかにしてきた。その過程で多数の *Nanobdellati* アーキアの培養に成功し、そのうち 2 株 (*Microcaldus variisymbioticus* ARM-1^T 株および '*Nanofervidus parviconus*' YN1 株) について、ゲノム解析、生理学的解析、形態学的解析、進化系統解析を行い、詳細な性状を明らかにしてきた (Sakai *et al.*, 2022; Johnson *et al.*, 2024a)。本報告では、これら 2 株の培養実験を通じて得られた *Nanobdellati* アーキアの生理生態に関する知見について紹介する。なお、解析方法等のより詳細な情報については各原著論文 (Sakai *et al.*, 2022; Johnson *et al.*, 2024a; Johnson *et al.*, 2024b) を参照されたい。

2. ARM-1 株の生理生態

2.1 分離源・生息環境

Microcaldus variisymbioticus ARM-1^T 株は、インドネシアジャワ島西部の地熱地帯 Kawah Domas にある湯溜まり (62°C, pH 3.3, Fig. 1) から、宿主 *Metallosphaera javensis* AS-7 株との共培養下で分離された。現在までに酸性温泉以外からの培養報告はないが、本種と比較的近縁な微生物 (別属) が鉱山廃水から培養された報告が 2 件ある (Krause *et al.*, 2017; Golyshina *et al.*, 2017)。また、

ARM-1^T 株に近縁な環境 DNA 配列 (※16S rRNA 遺伝子の相同性が 95% 以上の DNA 配列) は DNA データベース上には確認されないため、本種の自然環境中での詳細な分布については不明な点が多い。しかしながら本種が利用可能な宿主は、酸性温泉でしばしば優占する *Sulfolobales* 目というアーキア系統に属することから、*Microcaldus* 属は高温・酸性環境に幅広く生息していると推定される。

2.2 ゲノム性状

ARM-1 株は全長 814,439 bp (GC 含量 34.1%) の小さなゲノムをもち、タンパク質をコードする遺伝子はわずか 849 個である。ゲノム上には TCA 回路、呼吸鎖複合体 (I, II, IV, V)、酸化ストレス応答関連遺伝子 (例えば *cydA*, *sod*, *ahpC* など) がコードされているが、解糖系や糖新生、ペントースリン酸経路、炭素・窒素固定、アミノ酸・核酸・ビタミン合成等に関わるほとんどすべての遺伝子をもたない (Sakai *et al.*, 2022)。そのため、これらの代謝を宿主に依存して増殖していると考えられる。



Fig. 1 Sampling site where strain ARM-1^T was isolated. Image courtesy of Prof. Norio Kurosawa, Soka University.

2.3 細胞形態

ARM-1^T 株は直径わずか 240–440 nm の極小球菌であり、宿主細胞へ付着する様子が観察されている (Fig. 2a)。クライオ電子顕微鏡を用いた超微細構造の観察により、宿主細胞から突出した多数の管状構造が ARM-1^T 株の細胞に突き刺さっている様子が観察されている (Fig. 2b) (Johnson *et al.*, 2024b)。これらの管状構造を介して ARM-1^T 株は宿主から栄養を受け取っていると推定されている。

2.4 生理性状

ARM-1^T 株は、生育温度範囲 50–75°C、生育 pH 範囲 1.5–4.5 の好熱好酸性菌である。宿主の

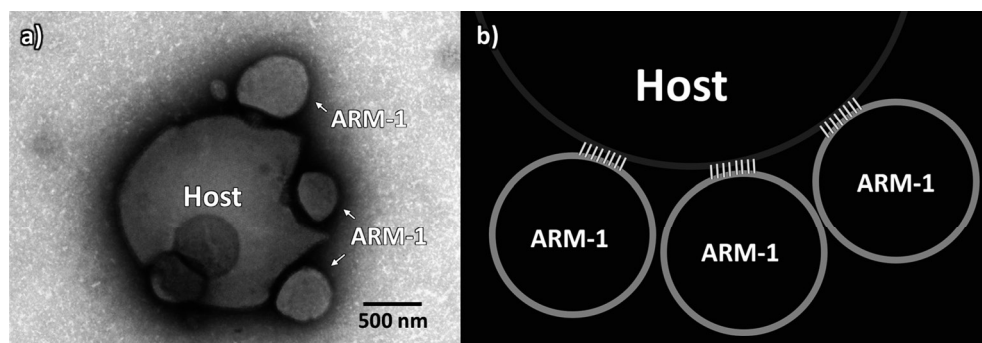


Fig. 2 Cell morphology of strain ARM-1^T and its host. (a) Transmission electron micrograph. (b) Illustration based on cryo-electron microscopy images (see Johnson *et al.* 2024b. for the original figure).

存在下において、酵母エキス、トリプトン、ペプトン、カザミノ酸などの複合基質や、グルコース、スクロースなどの糖を炭素源として添加した従属栄養培地で増殖する。また、単体硫黄や黄鉄鉱を添加した無機培地においても増殖が確認されているが、宿主の非存在下では増殖しないため、独立栄養的に増殖した宿主が生成した有機物を利用して増殖していると推定される。ARM-1^T 株の存在下では宿主の増殖開始が遅れることに加えて、その最終細胞密度も約 2 分の 1 に低下するため（酒井, 2022）、ARM-1^T 株は寄生性だと推定される。

2.5 宿主範囲

3 属 5 種の異なるアーキア (*Acidianus brierleyi*, *Metallosphaera hakonensis*, *Metallosphaera javensis*, *Metallosphaera sedula*, *Saccharolobus solfataricus*) を宿主として利用して増殖する。宿主の分類系統は *Sulfolobales* 目である。*Nanobdellati* アーキアの中では唯一、複数種の宿主を利用して増殖可能な種である。

2.6 系統分類情報・命名

Microcaldus variisymbioticus ARM-1^T 株は *Microcaldota* 門 *Microcaldia* 綱 *Microcaldales* 目 *Microcaldaceae* 科 *Microcaldus* 属に属する。属名 *Microcaldus* の由来はラテン語で「小さい」を意味する *Micro* と「熱い」を意味する *caldus* に由来する。種小名 *variisymbioticus* は、ラテン語で「さまざまな」を意味する *varius* と「共生」を意味する *symbioticus* に由来し、「さまざまな微生物と共生する好熱性微生物」という意味をもつ。

3. YN1 株の生理生態

3.1 分離源・生息環境

‘*Nanofervidus parviconus*’ YN1 株は、鹿児島県霧島市にある湯の池温泉 (Fig. 3) から、宿主 *Sulfurisphaera ohwakuensis* YN1HA 株との共培養下で分離された。本種と近縁な微生物（別属）が酸性温泉から培養された例が 3 件報告されている (Wurch *et al.*, 2016; John *et al.*, 2019; Kato *et al.*, 2022)。また、近縁な環境 DNA 配列が世界各地の酸性温泉から検出されていることから、本種は高温かつ酸性の自然環境に幅広く生息する微生物であると考えられる。

3.2 ゲノム性状

YN1 株は全長 773,326 bp (GC 含量 23.4%) の小さなゲノムをもち、タンパク質をコードする遺伝子はわずか 889 個である (Johnson *et al.*, 2024a)。ゲノム上には解糖系や糖新生に関わる遺伝子を一部保持しているものの経路は不完全である。加えて、TCA 回路、呼吸鎖、ペントースリン酸経路、炭素・窒素固定、アミノ酸・核酸・ビタミン生合成等に関わるほとんどすべての遺伝子を欠くことから、これらの代謝機能を宿主に強く依存して増殖していると推定されている。上述の ARM-1^T 株と同様に、酸化ストレス応答関連遺伝子（例えば *cydA*, *sod*, *ahpC* など）



Fig. 3 Sampling site where strain YN1 was isolated. Image courtesy of Prof. Norio Kurosawa, Soka University.

ど) がコードされており, 好気的な培養条件と一致している.

3.3 細胞形態

YN1 株は直径わずか 300–600 nm の極小球菌である. 上述の ARM-1^T 株と同様に, 宿主細胞への付着が観察されている (Fig. 4a). 一方, YN1 株の細胞から突出した一本の細い管状構造が宿主細胞に突き刺さるように接触している様子が観察されている (Fig. 4b) (Johnson *et al.*, 2024a). 同様の構造は近縁種 (例えば *Nanobdella aerobiophila*) にも観察されており (Gaisin *et al.*, 2024 ; Goto-Ito *et al.*, 2025), この一本の細い管状構造を介して YN1 株およびその近縁種は宿主から栄養を受け取っていると推定されている.

3.4 生理性状

YN1 株は, 生育温度範囲 55–95°C, 生育 pH 範囲 2.0–3.0 の好熱好酸性菌である. 酵母エキスを炭素源として添加した従属栄養培地で増殖するが, その他の炭素源の利用性および無機培地上での増殖については調べられていない. また, 上述の ARM-1^T 株と同様に宿主の非存在下では増殖できない. YN1 株の存在下では宿主の増殖が抑制されることから, YN1 株は寄生性であると推定されている (Johnson *et al.*, 2024a).

3.5 宿主範囲

上述の ARM-1^T 株とは異なり, 特定の宿主 (*Sulfurisphaera ohwakuensis* (Kurosawa *et al.* 1998)) にしか寄生できない. 近縁な培養種についても, いずれも特定の宿主のみに寄生して増殖することが報告されている (Wurch *et al.*, 2016 ; John *et al.*, 2019 ; Kato *et al.*, 2022). 宿主範囲が限定的である点が本系統の特徴的な点の 1 つである.

3.6 系統分類情報・命名

‘*Nanofervidus parviconus*’ YN1 株は, *Nanobdellota* 門 *Nanobdellati* 綱 *Nanobdellales* 目 *Nanobdellaceae* 科の新属新種 ‘*Nanofervidus parviconus*’ として提唱されたが, 原核生物命名規約 (International Code of Nomenclature of Prokaryotes) 上は未承認種である (※本稿では未承認種の慣例に従って学名をクォーテーションマークで囲んで表記した). 属名 ‘*Nanofervidus*’ は, ギリ

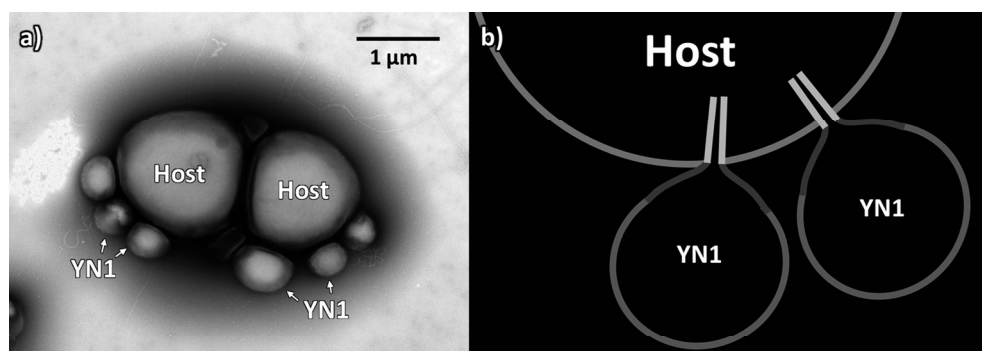


Fig. 4 Cell morphology of strain YN1 and its host. (a) Transmission electron micrograph. (b) Illustration based on cryo-electron microscopy images (see Johnson *et al.*, 2024a. for the original figure).

シャ語で「小人」を意味する *nanos* とラテン語で「熱い」を意味する *fervidus* に由来する。種小名 *parviconus* は、ラテン語で「小さい」を意味する *parvus* と「円錐」を意味する *conus* に由来し、「細胞表面に円錐状の構造を持つ小さな好熱性微生物」という意味をもつ。

4. おわりに

本報告では、酸性温泉から宿主との共培養下で分離培養に成功した絶対寄生性 *Nanobdellati* アーキア *Microcaldus variisymbioticus* ARM-1^T 株および '*Nanofervidus parviconus*' YN1 株の性状について解説した。両株はいずれも宿主への強い代謝依存性を示すが、ARM-1^T 株は複数の宿主を利用して増殖可能であるのに対し、YN1 株は特定の宿主にのみ依存して増殖する。また、クライオ電子顕微鏡観察によって両株の宿主との相互作用機構は明確に異なることが確認された。

これらの知見は、いまだ謎の多い *Nanobdellati* アーキアにおける寄生・共生機構の多様性や進化を理解するうえで重要な洞察を与えるものである。今後、培養株の拡充とそれに続く詳細な培養実験、さらにはクライオ電子顕微鏡観察に代表される最先端解析技術の活用により、*Nanobdellati* アーキアがどのように宿主と相互作用して共生関係を維持しているのか、その機構の解明が進むことが期待される。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、黒沢則夫教授（創価大学）、大熊盛也博士（理化学研究所）、伊藤隆博士（理化学研究所）、加藤真悟博士（理化学研究所）、布浦拓郎博士（海洋研究開発機構）、Antonius Suwanto 教授（IPB 大学）、Naswandi Nur 博士（インドネシア国立研究革新庁）Debnath Ghosal 准教授（メルボルン大学）をはじめ、多くの共同研究者より多大なご助力とご助言を賜りました。ここに心より感謝申し上げます。湯の池温泉における試料採取の際にご協力いただきました日鉄鉱業株式会社に深く御礼申し上げます。

本研究は科研費（18J10039, 21K15153, 24K18201）、発酵研究所若手研究者助成（Y-2020-2-032）、Human Frontier Science Program Early Career（RGEC33/2023）の支援を受けて実施いたしました。

引用文献

- Castelle, C.J., Banfield, J.F. (2018) : Major new microbial groups expand diversity and alter our understanding of the tree of life. *Cell*, **172**, 1181–1197.
- Gaisin, V.A., Wolferen, M.V., Albers, S.-V., Pilhofer, M. (2024) : Distinct life cycle stages of an ectosymbiotic DPANN archaeon. *The ISME journal*, **18**, 1–5.
- Golyshina, O.V., Toshchakov, S.V., Makarova, K.S., Gavrillov, S.N., Korzhenkov, A.A., Cono, V.L., Arcadi, E., Nechitaylo, T.Y., Ferrer, M., Kublanov, I.V., Wolf, Y.I., Yakimov, M.M., Golyshin, P.N. (2017) : “ARMAN” archaea depend on association with euryarchaeal host in culture and in situ. *Nature communications*, **8**, 60.
- Goto-Ito, S., Kato, S., Takahashi, M., Sakamoto, A., Yamagata, A., Lee, Y., Ehara, H., Sato, M., Toyooka, K., Ohkuma, M., Ito, T. (2025) : Structural analysis of a symbiotic system involving a *Nanobdellati* archaeon by cryo-electron tomography. *The Journal of Biochemistry*, in press, mvaf049.
- John, E.St., Liu, Y., Podar, M., Stott, M.B., Meneghin, J., Chen, Z., Lagutin, K., Mitchell, K., Reysenbach,

- A.L. (2019) : A new symbiotic nanoarchaeote (*Candidatus* Nanoclepta minutus) and its host (*Zestosphaera tikiterensis* gen. nov., sp. nov.) from a New Zealand hot spring. *Systematic and Applied Microbiology*, **42**, 94–106.
- Johnson, M.D., Sakai, H.D., Paul, B., Nunoura, T., Dalvi, S., Mudaliyar, M., Shepherd, D.C., Shimizu, M., Udupa, S., Ohkuma, M., Kurosawa, N., Ghosal, D. (2024a) : Large attachment organelle mediates interaction between *Nanobdellota* archaeon YN1 and its host. *The ISME Journal*, **18**, wrae154.
- Johnson, M.D., Shepherd, D.C., Sakai, H.D., Mudaliyar, M., Pandurangan, A.P., Short, F.L., Veith, P.D., Scott, N.E., Kurosawa, N., Ghosal, D. (2024b) : Cell-to-cell interactions revealed by cryo-tomography of a DPANN co-culture system. *Nature Communications*, **15**, 1–11.
- Kato, S., Ogasawara, A., Itoh, T., Sakai, H.D., Shimizu, M., Yuki, M., Kaneko, M., Takashina, T., Ohkuma, M., (2022) : *Nanobdella aerobiophila* gen. nov., sp. nov., a thermoacidophilic, obligate ectosymbiotic archaeon, and proposal of *Nanobdellaceae* fam. nov., *Nanobdellales* ord. nov. and *Nanobdellia* class. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **72**, 1–12.
- Krause, S., Bremges, A., Münch, P.C., McHardy, A.C., Gescher, J. (2017) : Characterisation of a stable laboratory co-culture of acidophilic nanoorganisms. *Scientific Reports*, **7**, 3289.
- Kurosawa, N., Itoh, Y.H., Iwai, T., Sugai, A., Uda, I., Kimura, N., Horiuchi, T., Itoh, T. (1998) : *Sulfurisphaera ohwakuensis* gen. nov., sp. nov., a novel extremely thermophilic acidophile of the order *Sulfolobales*. *International journal of systematic bacteriology*, **48**, 451–456.
- Sakai, H.D., Kurosawa, N. (2016) Exploration and isolation of novel thermophiles in frozen enrichment cultures derived from a terrestrial acidic hot spring. *Extremophiles*, **20**, 207–214.
- Sakai, H.D., Nur, N., Kato, S., Yuki, M., Shimizu, M., Itoh, T., Ohkuma, M., Suwanto, A., Kurosawa, N. (2022) : Insight into the symbiotic lifestyle of DPANN archaea revealed by cultivation and genome analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **119**, e2115449119.
- Wurch, L., Giannone, R.J., Belisle, B.S., Swift, C., Utturkar, S., Hettich, R.L., Reysenbach, A.-L., Podar, M., (2016) : Genomics-informed isolation and characterization of a symbiotic Nanoarchaeota system from a terrestrial geothermal environment. *Nature Communications*, **7**, 12115.
- 宮林裕香, 坪井和彦, 酒井博之, Nur, N., Suwanto, A., 黒沢則夫 (2021) : 集積培養と 16S rRNA 遺伝子クローン解析法によるインドネシアの温泉からの培養可能な新規好熱菌の探索. *温泉化学*, **71**, 38–49.
- 酒井博之 (2022) : ミクルアーキアの最前線—酸性温泉から培養された新奇 DPANN アーキア ARM-1 株—. *日本微生物生態学会誌*, **37**, 59–62.
- 黒澤佳子, 酒井博之, 黒沢則夫 (2019) : 雲仙温泉に生息する好熱菌の非培養法による種組成解析. *温泉科学*, **69**, 81–89.