

新規低温微生物 *Psychromonas marina* の分類学的性質について

ゆもと いさお ひしぬめめぐみ のださか よしのぶ かわさき こうせい
 ○湯本 勲¹、菱沼 恵¹、野田坂 佳伸²、川崎 公誠³
¹工技院 北工研 低温生物化学部 ²北大歯学部電顕室

【目的】地球上の約80%が10°C以下の低温環境であると考えられるが、低温環境の中には季節的に温度が大幅に変動する場合もある。低温環境は一般的に多くの生物種を受け入れにくい環境であるが、多種多様な細菌種が適応し、棲息しているものと考えられている。近年、深海や南極等の通年低温状態の環境から微生物が分離されてきており、どの様な細菌種が通年低温状態の環境に適応しているのかが、次々と明らかになってきている。現在までの研究例において、*Colwellia*属細菌や*Moritella*属細菌は通年低温状態の環境からのみ分離されており、これらの属に分類される細菌種が低温環境固有のものであるとすると細菌の低温適応の進化を考える上で大変興味深い。今回、分離同定例は南極から一例あり、これまでの深海や極地分離菌株の16S rRNA遺伝子解析の結果、深海や極地でしか、分離例のない*Psychromonas*属細菌をオホーツク海の流水接岸期に北海道東部の紋別市において採取した海水試料より分離し、分類学的検討を行なった。

【方法】北海道紋別市において採取した海水試料（水温、-2°C）を採取し、Marine agar 2261（Difco社製）平板寒天培地に直接塗抹した。これを0°Cで4週間培養し、同寒天平板上で25°Cで生育しなかった菌株（4-22株）を分離した。本分離菌株について、透過型および走査型電子顕微鏡による形態観察、糖代謝、NaCl要求性および耐塩性、生育温度域、最適生育温度、高分子分解能、基質利用性、オキシダーゼ、カタラーゼ試験等について性質を調べた。またDNAのG+Cmol%、菌体脂肪酸組成、イソプレノイドキノン分析等の化学分類学的性質を検討した。さらに、PCR法により、16S rRNA遺伝子を増幅した後、オートシーケンサーにより塩基配列を解析し、既知の細菌およびこれまでにデータベースに登録されているデータと比較するとともに、近隣結合法に基づき系統樹の作成を行った。

【結果および考察】分離菌株4-22株を電子顕微鏡で観察した結果、菌体の周囲に外胞が観察され、単一の極鞭毛および周在性の繊毛を持つことが認められた。また性状検査の結果、オキシダーゼ、カタラーゼ試験がともに陽性で、生育にNaClを要求し、液体培地を用いて生育温度域について検討したところ、0~25°Cで生育が確認されたが、27°Cにおいては生育しなかった。最適生育温度は14~16°Cであった。化学分類学的性質について検討した結果、本分離菌株はユビキノン-8を主要成分として持っていた。また菌体脂肪酸を分析した結果、主要な構成成分としてC_{16:0}、C_{16:1}、C_{18:1}、C_{14:1}、C_{15:1}を持っており、主要成分より少量ながらC_{22:6} (DHA) も含まれていることが確認された。DNAのG+C mol%は43.5%であった。分離菌株の16S rRNA遺伝子の塩基配列を決定し他の細菌種のものと比較したところ1998年に南極から分離された *Psychromonas antarcticus* と95.7%と最も高い相同性を示した。4-22株は*P. antarcticus*と酸素に対する態度、基質利用性、生育温度域等の点においても明らかに異なることから、新種細菌であると考えられた。