

海洋環境における活性細菌群集の多様性解析

たにぐちあきと はまさきこうじ
谷口亮人・浜崎恒二

広島大学大学院生物圏科学研究科海洋生態系評価論研究室

【目的】海洋の物質循環過程における有機物フラックスは、海洋細菌群集の活性やその組成に大きく左右される。こうした細菌群集の中で、特に高い増殖活性を有するものは、有機物の取り込みと細菌生産（増殖）を通して海洋生態系全体のフラックス変動に大きな影響を与えていると予想される。チミジンのアナログであるブロモデオキシウリジン（BrdU）は、DNA 合成の前駆物質として細菌細胞に取り込まれるため、増殖のマーカーとして利用できる。

本研究では、BrdU ラベルされた DNA を免疫学的に分取し、分子生態学的手法で解析することによって、実際の現場環境において高い増殖活性を有する細菌種を特定することを目的とした。

【材料・方法】2002 年 7 月に広島湾と瀬戸内海の伊予灘の合計 4 測点において、水深 5 m から海水を採取し、300 μm のナイロンメッシュで前濾過した。海水サンプル 1 ℓ を、同じ海水で調製した無菌濾過海水 2 ℓ で希釈し、BrdU (1 μM) を加え、5 時間培養した。培養後の海水サンプル 3 ℓ を孔径 0.2 μm のメンブレンフィルターで濾過し細菌細胞を集めた後、凍結保存した。研究室で、メンブレンフィルターから DNA を抽出・精製し、抗 BrdU 抗体を用いて BrdU ラベルされた DNA を分取した。抽出した DNA から 16S rRNA 遺伝子の一部 (341F-534R) を PCR 増幅後、DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 法により解析した。また、DGGE バンドを切り出し、クローニング後、塩基配列を決定し、データベース上で相同性検索を行った。

【結果・考察】BrdU ラベルされた DNA に含まれる 16S rRNA 遺伝子解析の結果、21 種のクローンを特定し、 α -proteobacteria (6 種)、 γ -proteobacteria (11 種)、*Cytophaga-Flavobacterium* (4 種) に分類された。これらのクローンの中で、すべての測点に共通して見られたクローンは、*Vibrio splendidus*、*Acinetobacter junii*、*Pseudomonas beijerinckii*、uncultured marine bacterium SK1 に近縁であると推定された。すべての測点で高い増殖活性を有する細菌は、沿岸域における細菌生産に比較的大きな影響を与えていると考えられる。一部の測点で見られた別のクローン 2 種は、プロテオロドプシンによるエネルギー生産能を持つとされている SAR 86 クラスターに分類された。また、全 DNA と BrdU ラベルされた DNA の DGGE バンドパターンの比較から、すべての測点において存在するが、増殖活性が低いあるいはない細菌として、3 種のクローンが特定された。これらは、海洋細菌の主要な系統群の 1 つと考えられている SAR 11 クラスターに分類された。

問い合わせ：谷口亮人 htrakito@hiroshima-u.ac.jp