

C-10

海水中で優勢な脱窒細菌 *Marinobacter* spp. の脱窒遺伝子群 (*nirS* および *nosZ*) とその分布 -海水中の脱窒細菌の生態に関する一考察

よしながいくお きどまさひで おかだけんたろう うちだありつね
○吉永郁生・城戸優英・岡田健太郎・内田有恆

京都大院・農・海洋微生物

【目的】海洋の窒素化合物の動態は、植物プランクトンによる炭酸同化活性に影響し、さらには大気中の炭酸ガス濃度や地球全体の気候・環境をも左右する。さらに陸域から過剰に供給される窒素化合物は沿岸海域の富栄養化を引き起こし、赤潮や貧酸素域の拡大などの環境悪化の原因となる。このように海洋の窒素化合物の動態は様々な局面で重要であるにも関わらず、窒素循環に関わる海洋微生物について知見は、陸上のそれと比較して少ない。脱窒は海域からのほとんど唯一の窒素放出経路であるが、一方で脱窒の過程で産生される亜酸化窒素ガス (N_2O) は強力な温暖化ガスであり、かつオゾン層破壊ガスでもある。 N_2O の発生源としての海洋の比重も無視できない。我々はこれまでに、特に情報が乏しい海水中の脱窒細菌の分布と種組成および N_2O の収支に関わる遺伝子群 (NO_2^- reductase gene, *nirS* と N_2O reductase gene, *nosZ*) を解析し、比較的酸素の豊富な表層海水中には海洋底土や森林土壌などとは系統的に異なる脱窒細菌と脱窒関連遺伝子が優占していることを報告した。今回は海水中で脱窒細菌優占種と考えられる *Marinobacter* 属の2種の細菌から *nirS* と *nosZ* の全長および上流配列の一部を決定するとともに、これらの脱窒細菌の生態や今後の研究課題について考察する。

【方法】1999年に播磨灘の海水中から分離した2種の *Marinobacter* 属の脱窒細菌 HS7 株と HB7 株のゲノム DNA から既知の配列データを基に設計した複数のプライマーを用いて目的の遺伝子断片を PCR 増幅し、塩基配列を決定した。また決定した塩基配列から TaqMan システムを設計し、real-time RT-PCR 法によって脱窒遺伝子の発現誘導を確認した。さらに海岸岸壁や浮泥、懸濁粒子などの試料中の脱窒細菌や脱窒関連遺伝子の分布を調べ、そこから得られた知見から海水中の脱窒細菌の生態を考察した。

【結果と考察】2種の海洋性脱窒細菌の *nirS* と *nosZ* はいずれも *Pseudomonas* 属の脱窒細菌と比較的近縁ではあるものの、新規な遺伝子であり、硝酸や亜硝酸存在下で発現誘導されることを明らかにした。脱窒細菌は 16S rDNA による系統のなかで広範囲に分布しているため、これまで水平伝播している可能性が考えられていたが、両遺伝子の系統的位置は 16SrDNA によるそれと良く似ており、上記の仮説を否定する結果となった。また、浮泥や植物プランクトンを含む海水中の微小懸濁粒子が海水中の脱窒細菌にとって重要な生息場となっているのではないかと考え、現在、懸濁粒子を中心とした微環境において脱窒細菌の分布や関連遺伝子の発現の有無を検出する手法を構築しようとしている。

吉永郁生 (iyoshina@kais.kyoto-u.ac.jp)