

P-30

ポスター発表

腐植質土壌を対象としたバイオマス糖化関連因子の網羅的探索

○高崎 一人<sup>1</sup>、鎌形 洋一<sup>1,2</sup>、花田 智<sup>1</sup>、木村 信忠<sup>1</sup><sup>1</sup>産総研生物機能、<sup>2</sup>産総研ゲノム

Key words : metatranscriptome, mRNA, soil

近年、分離・培養を経ずに環境中から直接新規有用遺伝子を獲得する試み(メタゲノム解析)が盛んに行われている。環境中に存在する未知有用遺伝子を探索するにあたり、原核生物に限定的であった従来の遺伝子資源を真核生物に拡張することは非常に重要である。環境中で木質が分解する過程では、真核生物であるカビや腐朽菌が精力的に活動しており、本土壌中には木質バイオマスの分解に係わる遺伝情報の転写産物(mRNA)が大量に含まれていると予想される。これにより、本土壌より精製した mRNA を基に作製した cDNA ライブラリーには、木質バイオマスを分解するための遺伝子が高度に集積されていると期待される。今回、我々は腐食質土壌を対象とした網羅的遺伝子発現解析(メタトランスクリプトーム解析)を行ったのでご紹介する。土壌サンプルに微結晶性セルロース(アビセル)を添加し、土壌中に存在する木質バイオマスの分解に関与する mRNA 群を誘導させた後、全 RNA の抽出・精製を行った。精製を行った全 RNA は Oligotex-dT30 (TaKaRa)を利用して mRNA を分画した。逆転写反応により cDNA を作製した後、高速シーケンサーGS FLX (Roche)により約 93 Mbp 分の塩基配列を解読した。解読を行った配列を対象としてアセンブルを行った結果、約 17,000 のコンティグと約 40,000 のシングレットに分別された。また、解読した配列を対象として相同性検索を行った結果、木質バイオマスの分解に関与すると考えられる糖質加水分解酵素をコードする遺伝子(断片)が多数検出された。このような網羅的遺伝子発現解析は環境中に膨大に存在する他の未知有用遺伝子を獲得するための有効なアプローチであると考えている。

k-takasaki@aist.go.jp

P-31

ポスター発表

FSC 分離法による新規脱窒細菌の単離とその機能遺伝子解析

○芦田 直明<sup>1</sup>、石井 聡<sup>1</sup>、多胡 香奈子<sup>1</sup>、辻 堯<sup>2</sup>、吉村 義隆<sup>3</sup>、大塚 重人<sup>1</sup>、妹尾 啓史<sup>1</sup><sup>1</sup>東大院農、<sup>2</sup>玉川大研、<sup>3</sup>玉川大農

Key words : rice paddy soil

水田土壌は脱窒が活発に行われる場として知られている。土壌 DNA に基づくこれまでの研究によって、水田土壌にはいままで知られていない新規な脱窒菌が存在する可能性が示唆された。これら新規脱窒菌を単離するため、今回、われわれは Functional Single Cell (FSC)分離法を適用した。FSC 分離法とは、土壌に細菌の基質と細胞分裂阻害剤を添加して培養し、伸長した細胞をマイクロマニピュレーターにより一細胞ずつ分離するものである。脱窒活性を高めた田無水田土壌から伸長細胞を FSC 分離し、DNB 培地で増殖させた。サンプルを平板培養により純化し、ガスクロマトグラフィーを用いて脱窒能を検定した。脱窒能陽性菌株について 16S rRNA 遺伝子配列を解読して系統解析を行うと共に、亜硝酸還元酵素遺伝子(*nirS*, *nirK*)について PCR 増幅したのち、塩基配列を解読した。FSC 分離した 63 サンプル全てが DNB 培地で増殖し、平板培養で得られた単離菌株 80 株中 62 株が脱窒能陽性であった。このうち、*nirS* 配列が確認できたものが 34 株、*nirK* 配列が確認できたものが 4 株であった。16S rRNA 遺伝子および亜硝酸還元酵素遺伝子の配列に基づく系統解析の結果、さまざまな新規脱窒菌を単離することに成功したことがわかった。それには、以前の Stable Isotope Probing 法を用いた研究で検出された Rhodocyclales 目に近縁な新規の脱窒菌(1 株)、16S rRNA 遺伝子の大量シーケンス解析で検出された *Herbaspirillum* 属に近縁な新規の脱窒菌(19 株)、新規 *nirS* を保有する *Bradyrhizobium* 属細菌(7 株)等が含まれる。以上により、FSC 分離法はいままで単離されることがなかった新規の細菌を獲得するにあたり、有用であることが示された。

naoaki1104@yahoo.co.jp

P-32 の要旨は 1A-7 をご覧ください。