

LaMer 2019 研究報告

研究課題名: 愛媛県マダイ養殖場における微生物群集の機能

研究代表者: 首都大学東京(現・産業技術総合研究所) 高部由季

共同研究者: 沿岸環境科学研究センター 教授 鈴木聡

研究目的

本研究は、愛媛県愛南町のマダイ養殖いけす周辺の低次生態系における微生物群集が物質循環に果たす機能を明らかにすることを目的としている。先行研究として、2012~2014年の間に不定期で行った、瀬戸内海および宇和海での現場観測から、同いけす周辺には、好気性光合成細菌(Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria, 以降 AAnPB と称す)という機能細菌群が、通年で普遍的に、かつ時に高率(生物体積換算で50%超)で存在し、そこでの低次生態系の物質循環を駆動する主要な構成要素であることが明らかになっている(Sato-Takabe et al., 2015; 2016; 2018)。AAnPBは、基礎生産者であるシアノバクテリアと異なり、基本的には従属栄養的に有機物を用いて増殖するが、さらに光合成色素バクテリオクロロフィル(Bacteriochlorophyll, BChl) *a*を反応中心に有する光化学系を用いて、光エネルギーからATP合成をする光従属栄養様式を有する。これまでAAnPBは全球海洋表層に普遍的に分布していることが明らかになっているが、本海域のように通年でAAnPBが物質循環駆動における主要構成要素であるような海域は未だほとんど知られていない。本海域はAAnPBの生理生態学的研究を進める上で好適な貴重な観測地点と言える。

研究内容

本研究では、AAnPBに着目し、愛媛県愛南町のマダイ養殖いけす周辺の低次生態系の物質循環を駆動している主要構成要素である本細菌について、その生理性状を詳細に調べることを目的として、培養法でのAAnPBの分離培養とその生理性状試験に取り組んだ。

方法としては、2017年7月に愛媛県愛南町のマダイ養殖いけす直上の海水を採取し、それを海洋細菌培養用 Marine Broth 2216E 寒天培地に塗布し、暗所、20-30℃で培養したところ、100株を超える、BChl *a* を有する株を分離培養することに成功した。その際、寒天培地上のコロニーの BChl *a* 蛍光の有無を調べるために、以下の検出装置を用いた（図 1A）。本検出装置は、BChl *a* 蛍光を励起する3つの波長帯光を搭載し、CCD カメラで本蛍光を検出する。検出された BChl *a* 蛍光の有するコロニーの写真を図 1B に示す。

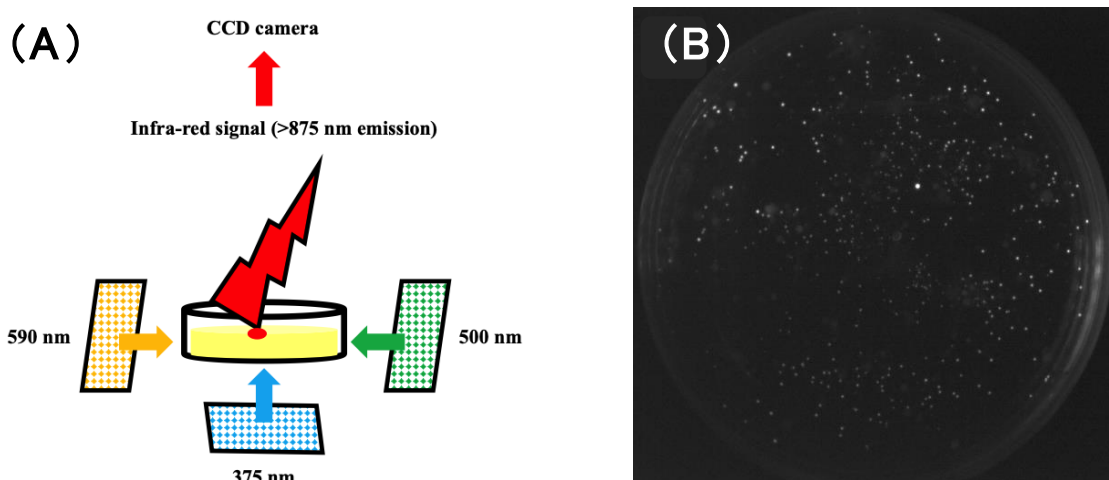


図 1 (A) BChl 色素の赤外蛍光を検出する装置の概略図。検出システムの原理としては、青色/緑色/赤色のスペクトル領域（375、500、590 nm）で光合成細菌の光捕集色素複合体を励起させることに利用している。入射光はカロテノイドによって捕集され、BChl 分子へ励起エネルギーを転送する。875 nm 以上の BChl の自家蛍光は、CCD カメラによって記録される。(B) 赤外蛍光スクリーニングシステムによって得られた、寒天培地上の BChl 蛍光の顕微鏡画像。

単離したコロニーのうち 51 株について菌体から DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子を標的にした PCR を行った産物の塩基配列決定を行った。その結果から、各株の近縁種推定を行った結果が図 2 である。全 10 属

(*Nereida*、*Roseobacter*、*Jannaschia*、*Thalassobacter*、*Litoreibacter*、*Nautella*、*Marivita*、*Sulfitobacter*、*Shimia*、*Erythrobacter*) に属する AAnPB が分離培養された。これらの内、*Nereida*、*Litoreibacter*、*Nautella*、*Marivita*、*Shimia* の 5 属は、同属内で、光合成関連遺伝子を有する種は報告されているが、BChl *a* を生産し、光合成能を発現している AAnPB はこれまで報告されていない。さらに、*Roseobacter*、*Jannaschia* の 2 属については、これまで同属内で AAnPB と報告されていた既知種とは別種であることが明らかになった。*Thalassobacter*、*Erythrobacter* の 2 属に含まれるものは、これまで AAnPB として報告のある種に近縁であった。

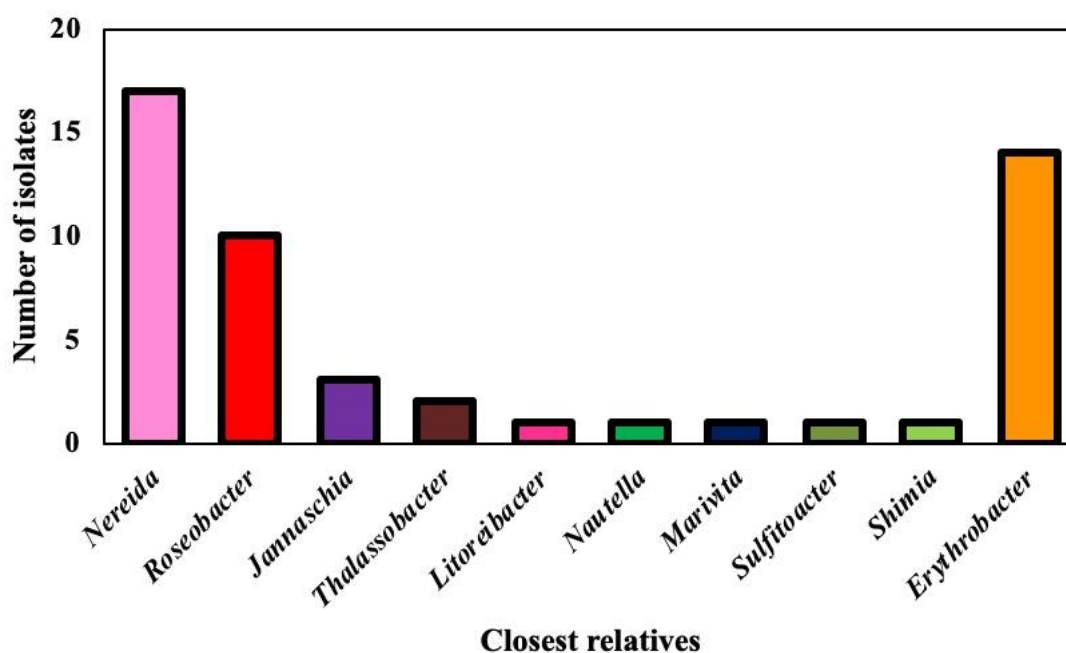


図 2 本研究における AAnPB 分離株 (n = 51) の近縁種の属レベルでの構成

研究成果

本研究により、愛媛県愛南町のマダイ養殖場において通年で物質循環駆動における主要構成要素である AAnPB について、その生理性状を詳細に

調べるための分離培養株を多く得ることに成功した。その分離培養株は、既知の AAnPB とは分子系統学的に異なる新規種であった。本研究成果として、本海域において低次生態系の微生物群集が物質循環に果たす機能を明らかにするための科学的基盤を構築するための研究材料として、新規 AAnPB を数多く得ることが出来た点が意義深い。

成果発表

本研究成果を以下の投稿論文として、国際誌 Water に投稿予定。

Yuki Sato-Takabe, Masataka Kanamuro, So Muramatsu, Kota Sekiguchi, Satoru Suzuki & Satoshi Hanada (In prep.) Brand-new culturable aerobic anoxygenic phototrophic bacteria that has not been found by culture-independent method.

今後の問題点

本研究によって、培養法による AAnPB の多様性は明らかになったが、海水中の細菌は 99%以上が難培養性と考えられており、培養法によって検出されるものは全細菌群集の内の 1%以下である。そこで、今後の研究課題として、培養に依存しない非培養法として分子生物学的手法を適用する必要がある。具体的には DNA ベースでの分子系統学的多様性調査に加え、RNA ベースでの遺伝子発現調査も行う必要がある。両者ともに、AAnPB のみを標的にするためにその光合成関連遺伝子である *pufM* を用いることで、AAnPB 特異的な、分子系統学的多様性とその光合成能の発現量を調べることが可能である。これらの AAnPB に着目した非培養法での知見は、本海域において低次生態系の微生物群集が物質循環に果たす機能を明らかにするために、培養法とは異なる視点での、より網羅的な全体像を付与すると考えられる。細菌の生理性状を直接調べるための分離培養株を得るための培養法と、培養法では検出出来ない優占種を明らかにする非培養法を合わせて行うことで、両方法のメリットを享受し、デメリットを補完することが出来る。