

## 水曜海山の海底熱水微生物生態系：高温熱水中の微生物はどこから来たか？

Hydrothermal microbial ecosystem at the Suiyo Seamount: of where microbes in extremely hot fluid came?

# 丸山 明彦[1], 砂村 倫成[1], 東 陽介[1], 石橋 純一郎[2], 森 浩二[3], 花田 智[4], 三朝 千稚[5], 難波 謙二[5], 中川 達功[6], 原 来人[7]

# Akihiko Maruyama[1], Michinari Sunamura[1], Yowsuke Higashi[1], Junichiro Ishibashi[2], Koji Mori[3], Satoshi Hanada[4], Chiwaka Miyako[5], Kenji Nanba[5], Tatsunori Nakagawa[6], Kurt Hara[7]

[1] 産総研・生物, [2] 九大・理・地惑, [3] 産総研, [4] 産総研 生物遺伝子資源, [5] 東大・農・水圏, [6] 都立大・理・生物, [7] 東京薬大・生命科学

[1] AIST-BR, [2] Dept. Earth & Planet. Sci., Kyushu Univ., [3] AIST, [4] Natl. Inst. of Adv. Ind. Sci. & Tech. (AIST), [5] Aquat Biosci, Tokyo Univ, [6] Biological Sci., Tokyo Metro. Univ, [7] Mol. Biol., Tokyo Univ. of Pharm. and Life Sci.

2001年6~12月の間、科学技術振興調整費「アーキアンパーク(AP)計画」の一環とし、伊豆小笠原海域の水曜海山カルデラ内海底熱水系における「微生物の住みか(熱水微生物生態系)」の解明を目的に計4航海(第二白嶺丸/BMS、新世丸/はくよう2000、なつしま/しんかい2000、かいいい)に参加した。採取したカルデラ内海底下のBMS掘削コア試料や自然掘削孔噴出熱水試料、現場高温培養試料、熱水ブルーム試料等を対象に、微生物の多様性や現存量、代謝活性等について分子・細胞レベルでの解析を進めた結果、低温熱水試料や熱水ブルーム試料からのみならず、当初の予想に反し200以上の高温熱水中にも多数の微生物が検出された。ここでは、得られた微生物データを俯瞰しつつ、これらの微生物がどこから来たかについて議論してみたい。

BMS掘削後、ケーシングパイプを装着した掘削孔や装着していない(または紛失した)掘削孔を対象に、ROVはくよう2000やしんかい2000に取り付けた温度プローブ付きポンプ式採水器やろ過器を用い、地下熱水環境より噴出する低温~高温の熱水または熱水中微生物懸濁物試料を採取した。同様に、砂質でほぼ平坦な海底面上に突如として出現する変色帯中の小型チムニーやシンカイヒバリガイ群落内の変色帯からの自然噴出熱水も対象とした。また、これら活動的な高温海底面へ、新たに製作した耐熱性耐腐食性の現場微生物捕獲-培養器を挿入、固定、数日間放置して得られた付着微生物試料も解析対象とした。

採取した高温熱水試料は、洋上で細胞固定処理後、有機被膜処理フィルター上をろ過することで微生物を不動化し、顕微鏡画像解析用に凍結保存した。これら試料を、陸上で各種DNA蛍光染色剤を用いた通常直接顕微鏡解析に供した結果、熱水活動由来の鉱物や懸濁物等の影響により、その多くは全菌数計測が困難であった。そこで、3大系統群を標的としたFISH-DC解析により、信頼性の高い微生物細胞計数を実施した。その結果、従来の予想を覆し、数十度の低温熱水中からのみならず最高300を越える熱水試料からも10000 cells/ml以上の微生物の存在を確認した。Mg濃度から見積もられた熱水の希釈率と出現微生物密度との関係では、熱水純度95%以上の試料で微生物細胞の存在が確認された。見出された微生物の大半は、バクテリアドメインに属するものであったが、既存のサブドメイン/グループ識別プローブでの特定化が困難であった。この結果は、上層の熱水ブルーム中のそれと一見類似していたが細胞形態等については明確な違いが認められており(砂村ら)、さらに構成微生物系統群の特定化と定量化を進めている。

現場培養器試料等の遺伝子増幅(PCR)-ランダムクローニング-分子系統解析結果も、上記の細胞解析の結果を概ね支持し、噴出高温熱水中にグループを中心とした新規性の高いバクテリアの存在を示唆した(東ら)。アーキアについては、チムニー試料や一部の噴出熱水試料で、その専用プライマーセットを用いたPCRでのみ検出可能であった(原ら、東ら)。一方、得られた高温深層部からのコア試料ではPCR検出困難であったが(森ら、中川ら)、一部のサイトの堆積層コア試料では微生物起源と思われるリン脂質(難波ら)やバクテリアクローン(中川ら)が見出された。また、海底面付近の堆積物/岩石試料からは、新規性の高い好熱性バクテリアが実際に純粋分離された(森ら)。

以上のように、2001年度AP計画において、水曜海山の高温熱水中や高熱海底面より、予想に反し多数の微生物を検出し、新規性の高いバクテリアやアーキアの存在を見出すとともに、新規好熱菌の獲得に成功した。また、見出された高温熱水中の微生物がどこから来たか?という世界的に興味をもたれている課題に対しても、その推測を可能にする結果がいくつか得られた。さらに、バクテリア系統群の組成やアーキアの出現状況等現在解析中の結果を踏まえ、二三の仮説を提示してみたい。