

## カテーテル型現場培養器を用いた水曜海山噴出熱水中の微生物群集解析

## Microbial diversity in Suiyo-Seamount hot vent fluids, using a catheter type in situ incubator samples

# 東 陽介[1], 砂村 倫成[1], 北村 恵子[1], 中村 光一[2], 石橋 純一郎[3], 丸山 明彦[1]

# Yowsuke Higashi[1], Michinari Sunamura[1], Keiko Kitamura[1], Ko-ichi Nakamura[2], Junichiro Ishibashi[3], Akihiko Maruyama[1]

[1] 産総研・生物, [2] 産総研・海洋, [3] 九大・理・地惑

[1] AIST-BR, [2] AIST, IMRE, [3] Dept. Earth & Planet. Sci., Kyushu Univ.

海底下から噴出する高温熱水中には、熱水地下生物圏での生存が期待される超好熱菌を含む未知の微生物群が含まれている可能性が高い。そこで、本研究では、地下から噴出する高温熱水中に微生物が存在した場合に、その微生物を人為的に付着・増殖させたのちに回収できるトラップを持つカテーテル型現場培養装置を作成し、「新生丸/はくよう 2000 航海(2001.7.26-8.11)」と「なつしま・しんかい航海 NT01-09(2001.9.28-10.26)」において、水曜海山から噴出する高温熱水中からの微生物採取および群集解析を試みた。

カテーテル型現場培養装置は、熱水噴出孔につきさすことができるように先端をとがらせたステンレス製円筒棒(長さ 500mm、直径 20mm)とその先端付近に取り付ける微生物付着担体(無機多孔質粒体)を包んだチタンメッシュカプセルからなる。本装置を、Archaean Park プロジェクト第二白嶺丸航海で実施された移動式海底掘削装置(BMS)により人工的に形成された掘削孔や天然チムニーに直接突き刺し、2-3 日間現場培養を行ったのち回収した。なお、装置の輸送・回収にあたっては、使用した ROV はくよう 2000 および潜水艇しんかい 2000 に、表層海水の混入を防ぐため無菌的に作成した約 4% 塩水を充填した密閉可能な輸送用筒を装着し、輸送中はその中に培養装置を入れて、外部の一般海水中微生物のコンタミネーションを極力さけるようにした。取得した微生物付着担体試料の大半は、無菌的に小チューブに小分けして、遺伝子析用や鉍物解析用として直ちに -80℃ 保存した。残りの試料は、培養用試料と SYBR Green I で染色したのち顕微鏡観察用試料として用いた。

顕微鏡観察を実施した結果、どのサンプルにも多孔質担体表面に黒色鉍物微粒子に混じって微生物が付着しているのが観察された。これらの試料を用いて Universal 用と Archaea 用のプライマーセットを使用した遺伝子増幅(PCR)-ランダムクローニングした試料を対象に分子系統解析を行った結果、特に  $\alpha$ -グループを中心に新規性の高い Bacteria の存在が示唆された。シンカイヒバリガイマウンド帯と砂地帯に掘られた掘削孔では、検出される Bacteria クローン群にも違いが見られ、噴出する熱水環境の相違が示唆された。また今回水曜海山高温熱水噴出孔から得られた微生物群は Southern East Pacific Rise (S-EPR) の低温熱水中で検出された微生物群とも異なっていた。Methanococcus jannaschii に近縁の Archaea クローンの他、新規性の高いクローンも見いだされており、現在さらに解析をすすめている。