

地下深部に生息する好熱細菌および超好熱細菌の 16S rRNA 遺伝子をターゲットとした選択的系統解析

Selective phylogenetic analysis targeted at 16S rRNA genes of (hyper)thermophiles in deep-subsurface geothermal environments

木村 浩之 [1]; 花田 智 [2]; 加藤 憲二 [1]

Hiroyuki Kimura[1]; Satoshi Hanada[2]; Kenji Kato[1]

[1] 静岡大・理・地球; [2] 産総研 生物遺伝子資源

[1] Institute of Geoscience, Shizuoka University; [2] Natl. Inst. of Adv. Ind. Sci. & Tech. (AIST)

<http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~shkimur/index.html>

深部地下掘削によって回収される岩石コアは、掘削水中の中温細菌や好冷細菌によって汚染されている可能性が高い。このことは、地下深部の高温環境に生息する好熱細菌や超好熱細菌の 16S rRNA 遺伝子による系統解析を行う際に大きな障害となる。そこで本研究では、掘削水から汚染する中温細菌や好冷細菌の 16S rRNA 遺伝子を除去するための方法として、熱変性と酵素分解を組み合わせた非常にシンプルな方法を開発した。この方法は、高い至適生育温度を有する好熱細菌や超好熱細菌が高い GC 含量の 16S rRNA 遺伝子を有することに着目したものであり、具体的には好冷細菌や中温細菌に由来する低 GC 含量の 16S rRNA 遺伝子のみを適当な温度にて熱変性させ、その後、1 本鎖 DNA に特異的な酵素 (Exonuclease I) を用いて分解するというものである。

この方法を検証するために、河川水 (14)、温泉水 (76)、表層海水 (30)、海底熱水 (117) の環境サンプルを用いたモデル実験を行った。それぞれの環境サンプルから微生物のゲノム DNA を抽出した後、バクテリアまたはアーキアの 16S rRNA 遺伝子を PCR 増幅させ、さらに、熱処理および酵素処理を行った。その結果、河川水に由来するバクテリアの 16S rRNA 遺伝子は、82 °C の熱変性とその後酵素処理によって完全に分解された。一方、温泉水に由来するバクテリアの 16S rRNA 遺伝子は、84 °C での熱処理とその後酵素処理で分解されることはなかった。次に、河川水と温泉水から抽出されたゲノム DNA を混合し PCR 増幅させた後、84 °C での熱処理および酵素処理をしたものをクローン解析した。その結果を熱処理しなかったオリジナルの温泉水のクローン解析結果と比較すると、河川水中のバクテリアに由来する大部分の 16S rRNA 遺伝子が除去されたことが明らかとなった。また、表層海水と海底熱水中のアーキアの 16S rRNA 遺伝子を対象にした実験でも同様の結果が得られた。以上の結果より本方法は、地下深部の高温環境から回収された岩石コア中の好熱細菌や超好熱細菌をターゲットとした系統解析に非常に有効である。

参考文献 : Appl. Environ. Microbiol. 72: 21-27 (2006)