

地下深部掘削コアからのDNA抽出開発とその成果 高熱性細菌の化石DNAの発見

Retrieval of fossil DNA from thermophilic bacteria in deep subsurface rocks by a newly developed DNA extraction method.

幸塚 麻里子 [1]; 須甲 武志 [2]; 伊藤 一誠 [1]; 鈴木 庸平 [1]

Mariko Kouduka[1]; Takeshi Suko[2]; Kazumasa Ito[1]; Yohey Suzuki[1]

[1] 産総研; [2] なし

[1] AIST; [2] JNES

地下深部生態系を直接的に解明するにはコア中から抽出したDNAを用いる分子系統解析が有効である。しかし、固結した堆積岩はDNAを吸着するシリカ鉱物やDNAを増幅する際のPCR反応を阻害する腐食物質を豊富に含むため、DNA抽出が困難であった。この事は無菌脱酸素掘削により得られた北関東第三紀堆積岩も例外ではなく、全菌数、極性脂質および代謝活性の解析結果からコア中に活動的な微生物が生息しているにも関わらず、コアからのDNA抽出に成功していなかった。本研究では掘削流体の汚染評価等も万全に行った北関東第三紀堆積岩コア(深度300-350m)を用いて新規のDNA抽出手法の開発を行った。

今回開発したDNA抽出法はアルカリ加熱によりDNAを吸着しやすいシリカ鉱物溶解させた後、DNAを分離精製する方法である。先行研究でDNAの抽出に成功していなかった凝灰質岩および泥質岩からDNA抽出に成功し、DNA溶液をテンプレートとしてPCR反応を行ったところ目的のDNA断片(16S rRNA)を増幅する事ができた。増幅した遺伝子に関して分子系統解析を行った結果、先行研究により掘削流体中の微生物群集構造解析から間接的に存在すると予想された *Pseudomonas* 属の細菌と近縁な(ほぼ同一)遺伝子配列が得られた。*Pseudomonas* 属の細菌の他にも、25 の現場地下温度からは想定されない *Thermus* 属の高熱性細菌に近縁な遺伝子配列も得られた。*Thermus* 属に近縁な遺伝子配列中のGC含量が、最適増殖温度が60 付近の高熱性細菌と同レベルであり、コア中でのオパールAからCTへの転移から見積もられた温度(60 付近)と一致した。これらの結果は、深部堆積岩内で高熱性地下微生物ワールドが形成されていた可能性を示唆する。今後、鉱物に封印された化石DNAの探索を行う予定である。