

## 拓洋第5海山と流星海山のマンガクラストの微生物群集の比較解析 Comparative analysis of microbial community on ferro-manganese crusts from Takuyo- Daigo seamount and Ryusei seamount

仁田原 翔太<sup>1\*</sup>, 加藤 真悟<sup>1</sup>, Rejishkumar V.J.<sup>1</sup>, 山岸 明彦<sup>1</sup>  
NITAHARA, Shouta<sup>1\*</sup>, KATO, Shingo<sup>1</sup>, Rejishkumar V.J.<sup>1</sup>, YAMAGISHI, Akihiko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京薬科大学 生命科学部

<sup>1</sup>Tokyo University of Life science and Pharmacy

### 【目的】

海洋底には、鉄とマンガンの酸化物を被覆した岩石が存在している。これらはマンガクラストと呼ばれ、海底面に普遍的に存在する (Rona 2003)。またマンガクラストはコバルト、白金などレアメタルを含んでいるために資源としての利用が期待されている。

マンガクラストは海底面に多く存在するため、水圏と岩石圏の間の物質循環へ大きな寄与をしていると予想される。また、そこに存在する微生物も物質循環へ大きく寄与していると考えられる。このマンガクラスト上には、微生物様の構造があることが電子顕微鏡による観察から示されている (Wang et al., 2009)。しかし、その微生物の種やその多様性、存在量についての情報は無い。

そこで我々は拓洋第5海山および流星海山のマンガクラストを採取、解析し、微生物の存在量、多様性について明らかにすること、また2つの異なる海山の微生物群集を比較することによって、その一般性、分布等についての知見を得ることの2点を目的として研究を行なった。

### 【方法】

2009年2月に行われたNT09-02航海において拓洋第5海山からマンガクラストを採取した。採取水深は1200 m、1419 m、2209 m、2991 mである。また2011年2月に行われたKY11-02航海において流星海山からマンガクラストを採取した。採取水深は1194 m、2079 mである。また比較試料として周辺堆積物、海水を採取した。

これらの試料からDNAを抽出した。このDNAを鋳型として、原核生物16S rRNA遺伝子全体を対象としたプライマー (Uni515F-Uni1407R) を用いてPCR増幅を行なった。この増幅産物をクローニング、シーケンシングにより塩基配列決定した。この情報を元に、分子系統学的解析を行なった。なお97%以上の配列相同性を持つグループを1つの系統型とした。同様の方法を用いて、真正細菌および古細菌のamoA遺伝子についても解析を行なった (Christopher et al., 2005, Romana et al., 2006)。IamoA遺伝子では98%以上の配列相同性を持つグループを1つの系統型とした。

TaqManプローブ法による定量PCRを用い、真正細菌 (Bac1369F-Prok1492R, プローブ TM1389F, Suzuki et al., 2000)、および古細菌 (Arc349F-Arc806R, プローブ Arc516F, Takai et al., 2000) それぞれの菌体数を推定した。また、SYBR Green Iを用いた定量PCRを用いて、古細菌および真正細菌のamoA遺伝子のコピー数を決定した (Christopher et al., 2005, Romana et al., 2006)。

### 【結果および考察】

現在までに拓洋第5海山のマンガクラストについて定量PCRを行い、真正細菌と古細菌の存在量について推定した。その結果、マンガクラスト上には真正細菌と古細菌がそれぞれ、 $10^6$ - $10^7$  cells/g程度存在することがわかった。4つのマンガクラスト試料のうち、3つのマンガクラスト試料において、古細菌の存在比率が高く (50-83%)、古細菌が微生物群集において大きな割合を占めていることがわかった。マンガクラスト上の微生物存在量は海水試料中 ( $10^{3-4}$  cells/ml) と比べて数桁高く、豊富な微生物の存在が示された。

拓洋第5海山と流星海山のマンガクラストの微生物群集を周辺堆積物や海水と比較した結果、マンガクラストの微生物群集は周辺堆積物や海水のそれとは異なっていた。このことはマンガクラスト上には周囲の環境と異なる微生物群集が形成されていることを示している。

採取された場所の異なる6つのマンガクラストから共通して検出された系統型として、Marine Group I (以下MGI) があげられる。このMGIは海洋性アンモニア酸化古細菌を含むグループであり、海洋に普遍的に存在する (例えば Karner et al., 2001)。また拓洋第5海山の4つのマンガクラストからはアンモニア酸化細菌である*Nitrosospira*属に近縁な16S rRNA遺伝子配列が検出された。これらのアンモニア酸化菌の存在は、アンモニア酸化に関わる遺伝子である真正細菌と古細菌のamoA遺伝子が検出されたことからサポートされる。また定量PCRによりamoA遺伝子のコピー数を推定すると、真正細菌と古細菌のamoA遺伝子がそれぞれ105-6 copy/g程度であった。

これらのことはマンガクラスト上に普遍的に、かつ豊富にアンモニア酸化菌が存在する可能性を示している。またMGIおよび*Nitrosospira*属は独立栄養性アンモニア酸化菌を含むグループであるので、これらのアンモニア酸化菌がマンガクラスト上の生態系において一次生産者としての役割を担っている可能性がある。

今後は流星海山の堆積物、海水サンプルについても解析し、拓洋第5海山のものと比較したい。また蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法による観察を行ない、生細胞の検出を行ないたい。

# Japan Geoscience Union Meeting 2012

(May 20-25 2012 at Makuhari, Chiba, Japan)

©2012. Japan Geoscience Union. All Rights Reserved.



BBG21-P15

会場:コンベンションホール

時間:5月21日 10:45-12:15

キーワード: マンガンクラスト, 微生物生態系, 16S rRNA 遺伝子

Keywords: ferro-manganese crusts, microbial ecosystem, 16S rRNA gene