

## 熱アルカリ細胞溶菌法による海底下微生物群集構造解析 A hot-alkaline DNA extraction method for deep seafloor communities

諸野 祐樹<sup>1\*</sup>; 寺田 武志<sup>3</sup>; 星野 辰彦<sup>1</sup>; 稲垣 史生<sup>1</sup>

MORONO, Yuki<sup>1\*</sup>; TERADA, Takeshi<sup>3</sup>; HOSHINO, Tatsuhiko<sup>1</sup>; INAGAKI, Fumio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 海洋研究開発機構 高知コア研究所, <sup>2</sup> 海洋研究開発機構 海底資源研究プロジェクト, <sup>3</sup> マリン・ワーク・ジャパン

<sup>1</sup>Kochi Institute for Core Sample Research, JAMSTEC, <sup>2</sup>Submarine Resources Research Project, JAMSTEC, <sup>3</sup>Marine Works Japan Ltd.

環境試料を用いた分子生態学的解析では、対象とする微生物群集全体から試料となる核酸が抽出されることを前提としている。地球上に存在する微生物の半数以上が生息されると言われている海底下の堆積物を対象に市販キットによる核酸抽出を行い、SYBR Green I によって残渣中の微生物濃度を計測したところ、抽出操作によって溶菌する微生物の割合は場合によっては 20% 以下であることが明らかになった。本研究では、環境中に生息する微生物群全体の姿を捉えることを目指し、微生物破碎効率の高率化と核酸抽出手法としての確立を目的とした。地球深部探査船「ちきゅう」などによって採取された海底下堆積物について、アルカリ溶液や市販のキットを含む複数の条件で DNA を抽出したところ、アルカリ溶液を用いた時に 95% を超える溶菌率が得られた。しかし、アルカリ処理による DNA への影響を調べたところ、一本鎖化だけでなく DNA 自体の断片化も引き起こすことが明らかとなった。DNA の断片化を抑えつつ、溶菌率を向上させる条件の検討の後に、それぞれの DNA 抽出物に含まれるバクテリア、アーキアの存在比の測定を行ったところ、溶菌率の違いによって構成種にも違いが見られた。このことから、抽出によるバイアスが実際に微生物群集構造解析の結果に影響を与えていることが示唆された。

キーワード: 海底下生命圏, DNA 抽出, アーキア

Keywords: Subseafloor microbial community, DNA extraction, bias, archaea