

ゲノムの視点から見出された超深海帯生態系における窒素代謝

○坪内 泰志・西 真郎・高木 善弘・荒井 渉 (海洋研究開発機構・Biogeos), 小椋 義俊・林 哲也 (宮崎大・フロンティア)、高見 英人 (海洋研究開発機構・Biogeos)

【緒言】地球規模での窒素循環の主たる場は、全地球表面積の 70%を占め、浅海から深海に至るまで様々な生態系とそれを構成する生物が存在する海洋であると考えている。自然界では過剰量の窒素フローが一時的に生じた湾内や沿岸において富栄養化を招くことがあるが、時間経過とともに従来の窒素水準量までに戻す潜在能力、いわゆる自然浄化を有していることもこの考察を支持している。また海洋の平均深度が 3,800m であることから考えても、地球規模の窒素循環には深海環境が担う役割は大きいと考えられる。これまでの研究では、深海における脱窒やアナモクス活性が深度 1,000-3,000m において数例検出されているが、さらに深い超深海帯においては依然として手が付けられていない。本航海目的地であるマリアナ海溝チャレンジャー海淵 (深度 10,920±10m) は超深海帯 (水圧 60MPa 以上、深度 6,000m 以深、水温 0.5~4℃)、暗黒、貧栄養な静的環境であり、近傍には熱水噴出口などの動的活動域も存在しないため、浅海との物質循環が殆ど発生しない。そのため生命活動には不利であるように見受けられるが、実際には映像からシンカイオオソコエビ等の存在が確認されており、独立的な生態系、そしてそれを支える窒素循環が保たれていると推定される。本研究は、深海帯における窒素化合物の物質動態に着目し、メタゲノム解析を通じて大深度生態系を支持する一要素である窒素循環モデルを構築することを目的とするものである。

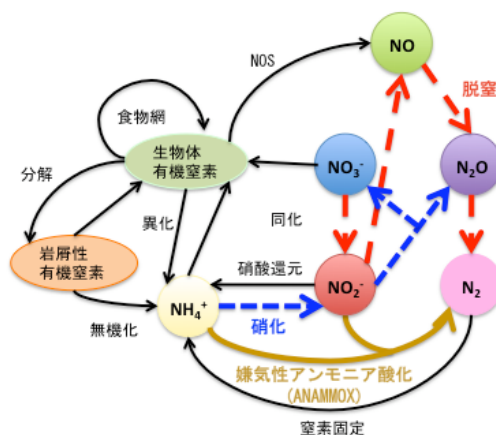


図1 これまでに見出されている窒素循環経路

【材料・方法】2008年6月、11,000m級フリーフォール式採泥/カメラシステムを用いてマリアナ海溝チャレンジャー海淵 (11-22.140N - 142-25.756E, 深度 10,895 m) において採泥を行った (航海番号: KR08-05)。得られた底泥は 10cm 間隔で切断し、用途に応じて保存している。本研究では当該底泥から抽出したゲノム DNA を用いて 454 pyrosequence 解析を行うと同時に、16 rRNA 遺伝子を指標とした系統解析を行った。また、環境 RNA の抽出も平行して行っており、得られた RNA は活動性微生物群、活動性機能遺伝子の同定、定量に使用した。

【結果・考察】pyrosequence 解析から得られた 2,300,000 read の配列に含まれる 16S rRNA 遺伝子の解析を行った結果、先行する系統解析結果同様に、バクテリア菌叢が非常に複雑な構成を示したのに対して、アーキア菌叢は数種類の Marine Group I に集約されていることを明らかとした。この中で占有率が最も高かったグループ (NitG1) は *Nitrosopumilus maritimus* と近縁関係にある。*N. maritimus* が属する Marine Group I は海洋環境において幅広く分布しており、アンモニア酸化能を有するとされることから、当該環境における窒素循環に大きな影響を有することが示唆された。そこで NitG1 ゲノ

ムの再構築を目標とする assemble 条件の検討を行った結果、NitG1 ゲノム由来と考えられる 1.29 Mb(311 contigs)のゲノム情報を得ることに成功した (図4)。このゲノム配列は *N. maritimus* が持つ遺伝子の77%を保存していた。その一方で、*N. maritimus* ゲノムとの比較から、挿入や欠損、さらには transposase 等の浮動遺伝子が多く見られ、ゲノム構造が大きく異なっていた。NitG1 ゲノムは *N. maritimus* と同様なアンモニア酸化や炭素固定関連の遺伝子群を有しており、さらに *N. maritimus* には見られない urease 遺伝子が存在していた。これらのことから、NitG1 もまた大深度において窒素循環に関与していることが強く示唆される。

実環境で NitG1 は活動性微生物であることを検証するために、環境 RNA を対象とした解析を現在展開中である。i)ゲノム解析によって得られた配列情報から設計した NitG1 特異的プライマーを用いた qRT-PCR による存在量の推定、ii)窒素化合物代謝系における鍵酵素構造遺伝子の転写量を測定、の2項目を解析することでその評価とし、併せて報告する。

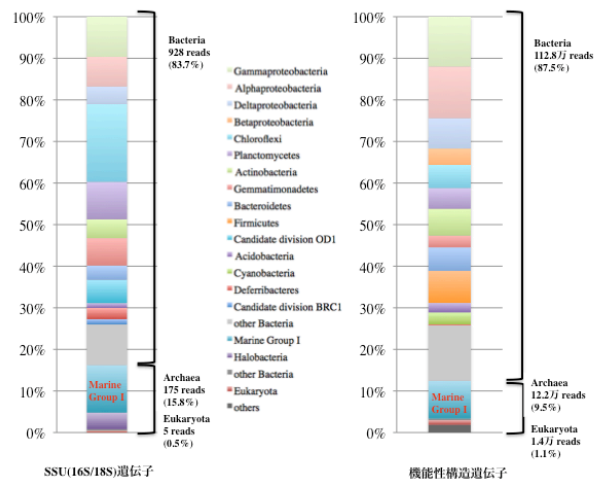


図2 メタデータに含まれるSSU-rDNAと機能性構造遺伝子のホモロジーベースでの微生物叢の系統分類

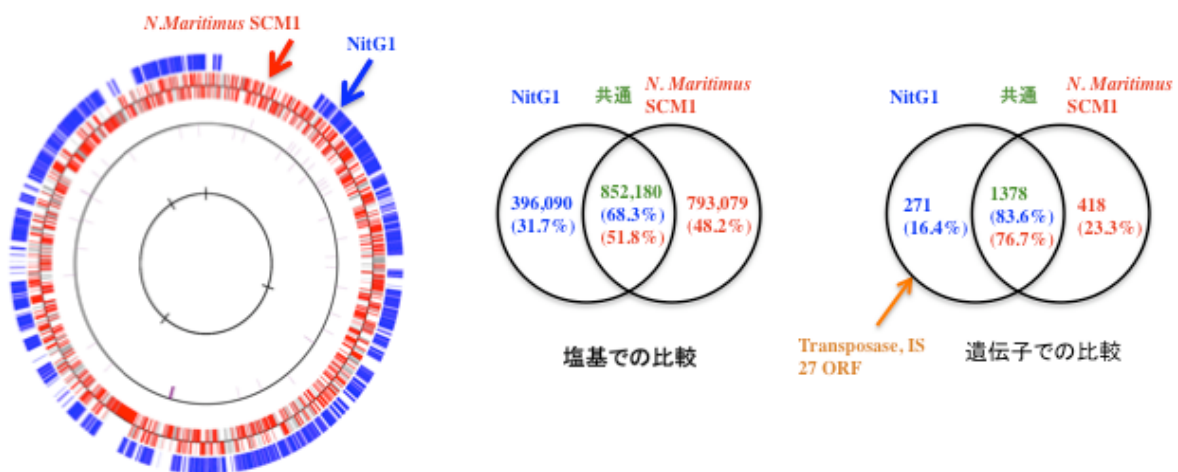


図3 NitG1ゲノムと*N.maritimus* SCM1の遺伝子の比較