

中部沖繩トラフで発見された熱水活動域ノホサイトの微生物学的研究

：新規微生物の分離培養と RNA を用いた微生物相解析

○武藤久・永田亮佑（京都大学），高木善弘・平井美穂・津田美和子（海洋研究開発機構），多米晃裕（海洋研究開発機構，(株)マリン・ワーク・ジャパン），美野さやか（北海道大学），布浦拓郎（海洋研究開発機構），澤山茂樹（京都大学），高井研（海洋研究開発機構），中川聡（京都大学，海洋研究開発機構）

深海底熱水活動域では，噴出する熱水と海水の反応により，チムニーという煙突状の構造物が形成される。チムニーの構造・鉱物組成・内外の環境は，噴出する熱水と周辺海水の影響を受け複雑に変動する。特に，熱水・海水双方の影響を強く受けるチムニー表層域には物理化学的に非常にダイナミックな環境が形成され，それに応じて多様な微生物が高密度に生息していることが知られている。これまで行われてきた DNA を用いた微生物相解析では，チムニーから従属栄養から独立栄養，好冷菌から好熱菌，アーキアからバクテリアといったきわめて多様な微生物が検出されており，未だ多くの未培養系統群が存在する。さらに，これらの解析で検出された微生物が本当に環境中で活動しているか，あるいは死菌や休眠細胞であるかは不明である。ダイナミックに変動する環境において活動的な微生物の種類や多様性を調べるには RNA を用いた解析が有効であると考えられるが，深海底熱水活動域，特にチムニー構造物の微生物群集を RNA を用いて解析した研究例は大変少なく，チムニーからの微生物 RNA 抽出が難しいことがその理由とされている。本発表では，2014 年に日本の近海で発見された深海底熱水活動域ノホサイトでの微生物活動を明らかにする第一歩として，ノホサイトにおいて①活動的な微生物の分離培養と，②チムニー微生物の RNA を用いた解析のために RNA 抽出方法を検討し，実際に抽出した RNA を用いて微生物群集を解析したので報告する。

【①新規微生物の分離培養】

NT15-13 航海において中部沖繩トラフのノホサイトで採取されたチムニー(HPD#1857R01, 深さ 1604 m)表面に付着していたゴカイの巣から，限界希釈法によってイプシロンプロオバクテリアに属する嫌気性中等度好熱菌の HS1857 株を得た。全ゲノム解析，増殖生理および化学分類学的特徴を調べたところ，本株は *Nautiliales* 目に属し，少なくとも種レベルの新規性を有することが明らかとなった。

【②RNA を用いたチムニー構造物の微生物相解析】

チムニー鉱物が RNA 及び RNA 抽出に与える影響を評価するために，チムニーの主要構成鉱物であるパイライト・バライトの粉末と，大腸菌トータル RNA や大腸菌細胞を混合したところ，チムニー構成鉱物に RNA が吸着されることが明らかとなった。チムニー鉱物への RNA 吸着防止法を探るために，海底堆積物からの RNA 抽出法を参考にいくつかの方法を試したところ，リン酸塩の添加によりチムニー鉱物への RNA 吸着量が大幅に減少することを突き止めた。そこで，NT15-13 航海で採取されたチムニーサンプルに同手法を適用したところ，一部のチムニーで解析に足る RNA を抽出することに成功した。抽出した Total RNA 中の 16S rRNA を用いて微生物群集構造を解析した結果，ノホサイトにおけるチムニー構成鉱物の形成環境を反映していると考えられる結果が得られた。今後は今回開発した手法を用いて，チムニーでの微生物活動をより詳細に明らかにしていきたいと考えている。