



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Microbial ecology in deep-sea hydrothermal vents : the population genetics of metabolically unique chemolithoautotrophic bacteria [an abstract of entire text]
Author(s)	美野, さやか
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第11783号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58644
Type	doctoral thesis
File Information	Sayaka_Mino_summary.pdf



主論文の要約

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：美野 さやか

学 位 論 文 題 目

Microbial ecology in deep-sea hydrothermal vents:

the population genetics of metabolically unique chemolithoautotrophic bacteria

(深海底熱水活動域の微生物生態：新規化学合成独立栄養細菌の集団遺伝)

深海底熱水活動域は、熱水中に含まれる還元的無機化合物をエネルギー源とした化学合成独立栄養細菌に立脚する独自の生態系が育まれている。培養に依存しない分子生物学的手法に基づく先行研究から、世界各地の熱水活動域に広く分布するコスモポリタンな微生物群集の存在が示唆されてきた。これらの化学合成微生物は環境中で炭素や窒素、硫黄の循環における生態学的なキープレーヤーであるものの、難培養性であったことからその詳細な遺伝学的特徴や生理・生化学的特徴を捉える術はなかった。しかしながら、現場環境を模した培養条件の確立を皮切りに、これらの微生物の一部を分離培養し、遺伝学および生理学的多様性や、分布様式、進化プロセスの解明など集団遺伝的方法論が適用可能となった。そこで本研究では、化学合成独立栄養細菌の網羅的な分離培養を介し、比較的頻繁に分離される *Aquificales* 目 *Persephonella* 属および *Epsilonproteobacteria* 綱 *Sulfurimonas* 属に属する微生物をそれぞれ好熱菌および常温菌のモデル微生物として、多遺伝子座配列解析(MLSA)法を用い、集団の分布様式や遺伝学的・生化学的特徴、増殖生理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

集団遺伝学的解析に必要な分離株の取得には、世界各地の熱水活動域(沖縄トラフ(OT)、南部マリアナトラフ(SMT)、インド洋中央海嶺(CIR))から採取した合計 239 の熱水性試料を分離源として用いた。嫌気性〜微好気性微生物の培養に適した培地を駆使し、*Epsilonproteobacteria* および *Persephonella* を含む計 141 株の分離株の取得に成功した。

好熱菌 *Persephonella* の集団遺伝構造解析にあたり、分離培養に成功した *Persephonella* 株のうち、相対的な高い 16S rRNA 遺伝子配列(≥98.7%)を持つ計 36 株を選別した。6 遺伝子座を対象として、プライマー設計と至適な PCR 条件を設定し、全ての分離株において全ての遺伝子座位の塩基配列の取得に成功した。MLSA に基づくタイピングおよび分子系統学的解析の結果、*Persephonella* 集団は、各株の分離源となる海域に対応する 2 つの異なるクラスターを形成した。集団の遺伝的分化の指標となる F_{ST} は、SMT 内のサイト間で求めた値($F_{ST}=0.1200, p<0.05$)と比べ、OT 由来株の集団と SMT 由来株の集団間で得られた値が有意に高かった($F_{ST}=0.8711, p<0.05$)。これらの結果から、海域間で集団に遺伝的分化が生じていることを明らかにした。さらに本集団の分化は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法(MALDI-TOF/MS)を用いた細菌細胞を構成するタンパク質のフィンガープリンティングの結果ともよく対応した。以上の結果は、拡散能や環境への適応力に長ける微生物に地理的隔離が存在しないとされる常識を覆し、世界で初めて熱水活動域の化学合成独立栄養細菌集団の遺伝学的・生化学的な生物地理的隔離を示唆するものである。

好熱菌 *Persephonella* 集団で見られた生物地理的隔離の特徴の普遍性を調べるため、系統学的・生理学的特徴の異なる中温菌 *Epsilonproteobacteria* に焦点を当て、その集団遺伝学的特徴や、進化プロセス、増殖生理学的特徴の解明を目指した。OT、SMT、CIR 由来株に、過去に取得された大西洋中央海嶺(MAR)および北部マリアナトラフ(NMT)由来株を加え、16S rRNA 遺伝子塩基配列の相対的な高い(≥98.07%)計 109 株を選別し MLSA に用いた。11 遺伝子座に基づくタイピングから、109 株中に 102 のユニークなシーケンスタイプ(ST: 11 遺伝子座のアレルタイプを連結させた 1 本の配列)が確認され、遺伝的に多様

な集団であることが示された。海域内で共有される ST やアレルタイプが検出されたことから、海域内で微生物集団の交流が示唆された。しかしながら、海域間での ST やアレルタイプの共有は確認されなかったこと、分子系統学的解析により分離源の海域を反映した 4 つのクラスターが形成されたことから、海域間の微生物交流は制限されており、*Epsilonproteobacteria* も *Persephonella* と同様の地理的隔離を受けていることを示した。特筆すべき点としては、OT 集団内で 2 つのクレードが認められた点である。両クレードの代表株についてエネルギー源となり得る基質の利用能試験および、水素酸化反応における酵素活性測定を行った結果、両クレード集団間で、水素酸化能に有意な差が認められた。ベイズ法に基づく集団構造解析から、現在の集団は 3 つの祖先集団から構成されており、高い水素酸化能が認められたクレード集団は、現在の SMT や MAR を構成する祖先集団の遺伝学的特徴を持ち合わせていることが示唆され、これらの集団は過去に遺伝的交流があったことが推測された。

本研究の遂行により、1) 深海底熱水活動域にする微生物集団は地理的隔離を受け、2) 遺伝学的特徴のみならず生化学的・増殖生理学的特徴にも異なる集団が形成されていることを突き止めた。今後、全球規模を目指した東太平洋海膨由来の微生物株の取得や、微生物の生理学的特徴、海流の循環や熱水の地質学的背景を含む熱水地球化学といった知見を統合することで、全球規模での包括的な熱水活動域生態系の理解および海洋生物資源としての活用が期待される。