

環境中メタン資化細菌の集積と検出及び単離

生命分子化学講座 応用菌学分野
山岸卓弥

(背景、目的) 地球上に遍在するメタンは燃料資源として活用される一方、温室効果ガスとして地球温暖化への影響が危惧される。メタンにはある種の微生物の活動が関ると考えられ、関連微生物の生態を理解することで地球環境の動向把握に応用が可能である。本研究では、特にメタンを炭素源として生育するメタン資化細菌を対象とした。

まず、高濃度のメタンが存在した永久凍土氷楔と、メタン関連微生物の生息が予想される北海道大学大野池の堆積物から、メタン資化細菌の検出と単離を試みた。氷楔は永久凍土中で形成され数万年間その状態が保たれてきた氷塊で、形成時の環境微生物が保存されている可能性がある。しかし、メタンを主炭素源とした集積培養と一連の解析で氷楔由来のメタン資化細菌は検出されず、氷楔形成時の微生物によるメタン資化の可能性は低いと考えられた。大野池の堆積物からは、メタン資化細菌とみられる微生物を単離したが、それらの 16S rRNA 遺伝子部分配列はいずれも 1 種類の既知メタン資化細菌と相同性が高かった。その一方で、分子生物学的手法を用いた菌叢解析から、異なるメタン濃度条件下で集積培養を行うと異なるメタン資化細菌が集積されることが示唆された。自然環境中では種々のメタン関連細菌、あるいは多様な微生物が共存しているが、そのほとんどは培養できないといわれており、集積条件の変化によって起こる菌叢の変化は重要である。そこで、メタン濃度及び培養条件による、メタン資化細菌及び関連細菌叢集積の解析を目的とした。

(方法、結果) 北海道大学大野池より採取した堆積物を試料とし、微生物の集積培養を行った。堆積物を接種源とし、炭素源の欠乏した液体培地、さらにメタン及び二酸化炭素と共にバイアル瓶に封入して、静置集積培養を行った。初発のメタン濃度を 0、0.1、10% の 3 種とし、またメタン濃度以外の選択圧を与えるため、継代を繰り返す集積系を作成した。定期的に各培養系のメタン濃度を GC で測定し、濃度が減少していればメタン資化菌叢が生育していると考え、初発濃度までのメタン添加や継代を行った。2 ヶ月間の集積で、メタンを添加した全ての集積系が継続的にメタン消費を示し、菌叢の変化が予想された。そこで、培養開始前の試料及び各集積系の最終培養物から DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子部分配列のクローンライブラリを作成して菌叢を確認した。いずれの集積培養系も菌叢が変化した可能性が示唆されたものの、メタン消費が認められたにも関わらずメタン資化細菌が検出されない培養系が存在した。これは解析クローン数の不足が一因であると考えられたため、Pyrosequence 法による 16S rRNA 遺伝子部分配列の大量解析を行った。

その結果、池堆積物及び全ての培養物からメタン資化細菌及び C1 資化細菌が検出されたが、メタン存在下での培養物は池堆積物と比べそれらの比率が増加しており、集積が働いたことが示された。メタン濃度、あるいは培養方法の違いによりメタン資化細菌及び C1 資化細菌の比率が大きく変化したことをはじめ、それぞれの培養系は細菌叢に差異が見られ、培養条件により影響を受けたことが明らかとなった。