

## 高温コンポストからの新規好熱細菌の分離

応用生物科学専攻 生命分子化学講座

基礎環境生物学 三浦 ちはや

### 1. はじめに

極限環境に適応した微生物は、ヒトからみて普通の環境に適応している生物由来の酵素では反応し得ない条件で反応する事が知られている。特に高温環境に適応した微生物には耐熱性酵素生産に寄与する可能性が期待されるため、新規な遺伝子資源の探索は重要である。

その温度が 90°C以上になる高温コンポストからの未知微生物の分離の試みはこれまでも行われ新属細菌の報告が行われた例もあるが、大部分の微生物が未知の状態である。そこで、本研究では、培地成分を検討することによって新規微生物の分離を試みた。

### 2. 方法

現場と同じ温度域では、微生物の生育が認められなかったため、6種類の培地を考案し、60°Cおよび75°Cで分離を行った。培地は組成の違いの他に、培地の溶媒に蒸留水を使用したものと分離源である高温コンポストエキスの抽出液を添加したものを使用した。その結果、69株の分離菌株が得られ、そのうち53株について部分的16S rRNA配列の解析と系統樹の作成を行った。

さらにそのうち既知種と類似度が低かった6株について全16S rRNA配列解析と系統樹の作成、細菌分類学に基づく性状検査、透過型電子顕微鏡による観察を行った。

### 2. 結果と考察

本研究で分離された新規好熱性細菌の614-12-1b, 614-18-2, 614-19はともに同一近縁種との類似度が96.2~97.6%で3株はお互いが近縁な新種であることが示唆された。A-1-4, A-1-6, A-1-7は近縁種との類似度が91.2~94.1%であることから新属である可能性が示唆された。さらにこれら6株は遺伝子データベース上に登録されている様々なコンポストからクローン解析によって得られた未分離の菌株の遺伝子との類似度が非常に高かった(99~100%)。このことから、今までその遺伝子の存在は確かめられていたけれども、分離不可能であった菌株であると同時に、コンポストに比較的高頻度に存在する菌株である可能性が示唆された。また、これら6株の新規細菌は全てコンポストエキス抽出液を使用した培地から分離されたことから、分離源のコンポストの抽出物を含む培地を使用して分離を行う方法は、これまで難培養性だった微生物の分離に有効な手段の一つである可能性が示唆された。

### 4. まとめ

本研究では、平均90°Cとなる高温化コンポストから新種の可能性が高い3株と、新属の可能性が高い3株の好熱性細菌の分離に成功した。今後の課題は、これら6株の新種、新属を決定づけるためのデータをそろえることと、この6株が高温コンポストの形成に寄与している可能と考えられることから、コンポスト内におけるこれら6株の挙動について検討することである。