

## メタン酸化共生系の菌叢解析と C1 代謝遺伝子発現解析

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物新機能開発学 久後 貴寛

### 1. 背景と目的

地球温暖化への影響が危惧されている温室効果ガスには二酸化炭素のほか, その 20 倍以上の効果をもつメタンが存在し, 湿地や池, 水田などの自然環境から放出される。メタンの消費にはこれを直接利用するメタン酸化菌が大きく貢献していることが知られている。北海道大学大野池の堆積物を試料とし, メタン 10% (v/v) を唯一の炭素源として集積培養を行い, パイロシーケンス法により菌叢解析を行ったところ, メタン酸化菌 *Methylomonas* のみならずメタノール酸化性菌 *Methylophilus* も優占的に集積されていることが分かった。この 2 者を純粋分離し, 混合培養によるメタン酸化系バイオフィルムの再構成をすることに成功したことから, 高濃度メタン環境におけるこれらの菌の強い関連が示唆された。しかし, パイロシーケンス法ではその量比はおよそ 1:10 と大きく *Methylophilus* に偏っており, メタンのみを炭素源として用いた培地においてこれを直接利用出来ない微生物が圧倒的に優占するという, 興味深くも不可解な結果を得た。本研究では Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法により得た画像の解析および *gyrB* 遺伝子を用いた定量的解析により, メタン酸化系バイオフィルム中における両者の存在比を再検討するとともに, これらのメタン・メタノール代謝系遺伝子の特定とその発現解析をすることで, 両者の共生関係に関する知見を得ることを目指した。

### 2. 結果と考察

*Methylomonas* および *Methylophilus* を共培養して得られたバイオフィルム断片を FISH 法により観察し, メタンを含んだ気相に接する側と液相に接する側で異なる構成および構造を確認した。さらに画像解析ソフトウェアによりこれらの量比を決定した。*gyrB* 遺伝子を用いた定量解析も同時に行い, FISH 法と合わせてより信頼しうる 2 者の存在比を算出することに成功した。その値は培養条件などにより異なるが, 2:1 から 1:2 の範囲を大きく超えないものであった。また RT-PCR 解析により, メタンを唯一の炭素源とした 2 者の共培養系において *Methylomonas* のメタン酸化遺伝子および *Methylophilus* のメタノール酸化遺伝子が発現していることを確認した。特に *Methylophilus* では同時に 4 種類のメタノール酸化系遺伝子が発現していることを確認した。以上のことより, *Methylomonas* および *Methylophilus* を優占種とするメタン酸化共生系において 2 者は, ある範囲の量比と特徴的な構造をとっており, 特に *Methylophilus* は複数のメタノール酸化遺伝子を発現させ, 細胞毒性が高いとされるメタノールを効率的に消費し, *Methylomonas* と協調してメタン消費に貢献していると考えられる。