# 自己評価報告書

平成23年 4月27日現在

機関番号: 20604

研究種目:基盤研究(B)研究期間:2008~2011課題番号:20370013

研究課題名(和文) 環境微生物群集における光エネルギー利用と細菌の飢餓適応戦略

研究課題名(英文) BACTERIAL ADAPTATION STRATEGY TO STARVATION IN MICROBIAL COMMUNITY OF NATURAL ENVIRONMENT IN RELATION TO THE UTILIZATION OF LIGHT ENERGY 研究代表者

松浦 克美 (KATSUMI MATSUURA) 首都大学東京・理工学研究科・教授 研究者番号:30181689

研究代表者の専門分野:光合成細菌に注目した環境微生物学

科研費の分科・細目:基礎生物学・生態・環境

キーワード: 微生物群集, 光エネルギー, 貧栄養, 飢餓適応, 光合成細菌, 生残戦略

- 1. 研究計画の概要
- (1) 温泉微生物マット中の光合成細菌遺伝子とイオウ・炭素・水素の循環機能の解析.
- ① 典型的な貧栄養環境の一つである温泉流水中の光合成細菌を含む微生物マットを材料にイオウ化合物,窒素化合物,水素の増減活性を測定する.
- ② 微生物マット中のリボソーム遺伝子,光 合成反応中心遺伝子,クロロフィル合成酵素 遺伝子の塩基配列を決定する.
- ③ 温泉中の光合成細菌を含む微生物群集におけるイオウ循環と水素の発生を明確に示す.あわせて、それに関わる細菌群の群集構造解析と空間分布を明らかにする.
- ④ 微生物マット中での主要な物質循環の全体像を明らかにするために、物質循環に関わる細菌を単離し、実験室内で温泉微生物マットを再構築し、上記の光合成細菌が関与する物質循環系の存在を実験的に検証する.
- ⑤ 上記の結果を合わせて、微視的な環境条件が、そこでの物質代謝、特に炭素、イオウ、水素の代謝に与える影響と、その中の光合成細菌の役割を明確にする。それを通して、光エネルギーのうち、増殖に使われる割合と増殖を伴わない生存に使われる割合を推定する。
- (2) 多摩川の川底礫上の微生物マット中の光 合成細菌の存在と機能の解析.
- ① 貧栄養環境である清浄な河川中の微生物 群集中において、光合成細菌が光エネルギー を利用して多くの種類が存在する可能性を、 光合成遺伝子解析を用いて検証する.
- ② 川底の礫上の微生物マットの発達過程を 経時的に観察し、光合成細菌が発達段階に応

じてどのように増加するかを明らかにする.

- ③ 川底礫上の微生物マットと,前項の温泉 微生物マットを比較し,中温域の微生物マットにおける光合成細菌と硫酸還元細菌が関与するイオウ循環の可能性を検証する.
- ④ 川の水質等(有機物濃度,温度,pH,各種塩類濃度,光強度)と,そこに存在する光合成細菌の相関を明らかにする.それにより,光合成細菌の物質循環における役割の他に,飢餓的条件における生存のために光合成機能を利用している可能性を探る.
- (3) 土壌中の光合成細菌の分布と貧栄養環境での光エネルギー利用
- ① 土壌中の貧栄養環境での光合成細菌の存在を,貧栄養条件を用いた集積培養で明らかにし,存在する細菌を単離同定する。
- ② 実験は場に、栄養条件の異なる土壌および砂地を用意し、光合成細菌を散布して、明暗両条件を与える。その後の消長をDNAプローブを用いて追跡し、光エネルギー利用の光合成細菌生残に適した条件を野外で調べる。RNAも解析することにより、実際に利用されている光合成活性との関係を明らかにする。
- ③ 単離した光合成細菌を用いて、実験室で光合成細菌の生存曲線を、さまざまな光条件で測定する.こられの結果と野外における光エネルギー利用との関係を探る.
- (4) 土壌および水界中の光合成細菌の物質循環機能と飢餓適応戦略のとりまとめ
- ① 設定した仮説「自然界に光合成細菌が広 範に分布している理由は、分解者としての細 菌が飢餓環境で生残(サバイバル)していく

ために光エネルギー利用が重要であるためである」を検証する.

② 前項を通して「多くの分解者が広範に光エネルギー利用(広義の光合成,ただし炭酸固定はなし)もしている」という新しい概念を確立することを目指す.

## 2. 研究の進捗状況

- (1) 温泉微生物マット中の光合成細菌遺伝子とイオウ・炭素・水素の循環機能の解析.
- ① 長野県中房温泉の65℃微生物マットでの 水素発生とイオウ代謝との関係を明示した。
- ② 微生物マット中のリボソーム遺伝子と光合成反応中心遺伝子の塩基配列を決定した.
- ③ 温泉微生物群集における光合成細菌とイオウ代謝細菌の空間分布を明らかにした.
- ④ 温泉微生物マット中の水素発生に関わる 細菌を単離した.
- ⑤ 光合成細菌を含む温泉微生物マット群集中で、貧栄養条件で少しずつ供給される電子が、イオウ、炭素、水素と原子間を循環しながら、群集中に蓄積され、そのことにより群集が発達できるという仮説を提唱した.
- (2) 多摩川の川底礫上の微生物マット中の光 合成細菌の存在と機能の解析.
- ① 貧栄養環境である青梅付近の多摩川の川 底礫上の光合成細菌の光合成遺伝子解析を行 い、未知の種を含め多くの光合成細菌種が存 在することを明らかにした.
- ② 川底の礫上の微生物マットの発達過程を 経時的に観察し、嫌気性光合成細菌が発達初 期から存在することを明らかにした.
- (3) 土壌中の光合成細菌の分布と貧栄養環境での光エネルギー利用
- ① 土壌中から貧栄養条件を用いて光合成細菌を集積培養した. 貧栄養条件でも, 既知の富栄養条件と同じ種が分離された.
- ② 3種の光合成細菌を用いて,実験室で炭素 飢餓条件での生残曲線を測定したところ,いずれも光が生残に重要なこと,暗条件での生残は種により大きく異なることを発見した.
- (4) 土壌および水界中の光合成細菌の物質循環機能と飢餓適応戦略のとりまとめ
- ① 貧栄養環境における光合成細菌の広範な分布と生残における光エネルギー利用の重要性を明らかにしつつある.
- ② 微生物群集にとって貧栄養環境においては、炭素よりも電子欠乏問題が重要であるという新規な着想を得て、実証しつつある.

#### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している. (理由)

大きく3つに分けた具体的な実験計画の主要部分は着実に進行し、25件の学会発表を行い、1件の論文を発表し、数件の論文作成が進行中である.特に本研究を通して、貧栄養の微生物群集において電子の群集中への前生を着想を得たこと、その中で光合成細菌の設立を着想を得たことを明らかにしたことは細菌の計画以上の大きな進展である.その新でる者想について学会発表を行い、生態系での物質循環やエネルギーの流れに関心のある研究者から高い評価を得た.なお本代表者は、生化学、生物物理学、進化学分野の研究を進めてきた経験・成果を受けて、本研究である.

### 4. 今後の研究の推進方策

最終年度1年を残すのみであり、これまでの研究が当初の計画以上に進展しているので、当初計画の中から特に論文の取りまとめに必要な実験に集中して取組み、多くの論文を発表することを目指す.

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者研究分担者及び連携研究者に は下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

① Kubo, K., K. Knittel, R. Amann, M. Fukui and <u>K. Matsuura</u>.
Sulfur-metabolizing bacterial populations in microbial mats of the Nakabusa hot spring, Japan. *Systems and Applied Microbiology* (2011) in press 查読有り

#### [学会発表] (計 25 件)

- ① <u>春田伸</u>「陸上温泉に分布する好熱性シア ノバクテリアの遺伝学的多様性」日本農芸 化学会 2011 年度大会(京都)(2011)
- ② <u>松浦克美</u>「光合成細菌の貧栄養環境下で の生残:種による違い」日本生態学会第 58 回大会(札幌)(2011)
- ③ <u>広瀬節子</u>「多摩川上流河川礫上バイオフィルムの紅色光合成細菌の多様性」第 26 回日本微生物生態学会(つくば)(2010)
- ④ Hara, N. Laboratory cultivation of hot spring microbial mat containing sulfur-oxidizing bacteria and sufate-reducing bacteria. 第26回日本微生物生態学会(つくば)(2010)
- ⑤ 松浦克美「貧栄養嫌気条件の微生物群集 における電子の循環と再利用」日本生態学 会第57回大会(東京)(2010)