

平成 21 年 6 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18310011

研究課題名（和文） 気候関連ガスの動態を左右する海洋微生物系統群の解析

研究課題名（英文） Identification and monitoring of key phylogenetic groups of marine bacteria involved in the emission of climate related gases

研究代表者

氏名（アルファベット） 浜崎 恒二（Hamasaki, Koji）

所属機関・所属部局名・職名 東京大学・海洋研究所・准教授

研究者番号 80277871

研究成果の概要：

本研究では、海洋微生物の生態を解析するための新しい手法を開発し、これらを駆使して、海洋における炭酸ガスやジメチルサルファイド（DMS）といった気候関連ガスの動態に強い影響を及ぼす微生物鍵種を特定した。さらに、独自技術に次世代超並列シーケンスを組み合わせた解析では、従来法では不可能であった希少種も含めた増殖群の特定に成功し、微生物多様性と生態系の安定性を議論する上での重要な知見を得ることが出来た。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
18年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
19年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
20年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
年度			
総計	15,800,000	4,740,000	20,540,000

研究分野：生物海洋学、微生物生態学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：海洋、微生物、炭素循環、ジメチルサルファイド

1. 研究開始当初の背景

細菌、古細菌、ウイルス、原生生物よりなる海洋微生物群集は、「微生物ループ」と呼ばれる有機物の転送過程を通じて、地球上の基礎生産のおよそ4分の1を利用、分解し、物質フラックスの変動を左右している。こうした微生物の多様性とその時空間的な変動は、生態系全体の物質循環にどのような影響を及ぼしているのだろうか、またどのようなフィードバックを受けているのだろうか？ 将来的な気候変動に対して、どのような応答を示すのだろうか？

従来の海洋観測では、海洋微生物群集はそれ自体が一つの機能集団（ブラックボックス）として捉えられ、全体の生物量や活性が測定されるに止まってきた。しかし、近年新しい方法論（分子微生物生態学）によって、その中身（種組成や各種の生物量）がダイナミックに変動する様子を捉えることが可能となってきた。従来のようにブラックボックスへの物質の出入りを記述するだけでなく、その中身を解析することによって物質の出入りをコントロールするしくみ（ダイナミクス）を知ることができる。

2. 研究の目的

本研究では、細胞増殖のマーカーとして細胞生物学、医学等の分野に汎用されているブROMODEOXYURIDINE (BrdU) を、海洋微生物自然群集の増殖応答解析に利用する独自のアプローチ「ヌクレオシドトレーサー法」によって、海洋における炭酸ガスやジメチルサルファイド (DMS) といった気候関連ガスの動態に、強い影響を及ぼす微生物鍵種を特定し、最新の分子微生物生態学的手法を駆使して、その動態を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、第一にヌクレオシドトレーサー法を用いて有機物質循環を駆動する鍵となる微生物系統群 (細菌および古細菌系統群 KeySpecies) の特定を行った。太平洋南北トランセクトを含む外洋域から沿岸域まで様々な環境試料を用いて解析を行った。第二に、ヌクレオシドトレーサー法、蛍光ビーズアレイ法、高精度 FISH 法を用いて特定細菌系統群 (*Roseobacter*, *Cytophaga* 系統群) の増殖応答解析を行った。平成 18、19、20 年度に珪藻ブルームを追跡するメソコズム実験を行い、*Roseobacter* と *Cytophaga* 系統群の動態、増殖応答を解析した。平成 19、20 年度には、南大洋において天然細菌群集に対する DMSP の添加実験を行い、*Roseobacter* 系統群を含む微生物系統群の増殖応答を解析した。

4. 研究成果

(1) 海洋細菌群集の中では総ての分類群が一斉に増殖しているのではなく、ある特定の種類 (即ち、“鍵種”) のみが活発に増殖し、有機物の分解・生成などに関与していると考えられている。したがって、天然海洋での異なる環境条件下における活性の高い鍵種を特定することにより、海洋の物質循環過程における有機物フラックスの変動機構を解明することが可能となる。しかしながら、従来そのような鍵種を捉える研究はほとんど行われていない。本研究では、活発に増殖している細菌群を種レベルで特定し、その時空間的変動を明らかにすることができる BUMP-DGGE 法 (BrdU magnetic beads immunocapture and PCR-DGGE 法) を開発し、その技法を海洋環境中における鍵種の時空間的変動の解明に適用した。外洋域、沿岸域を含む様々な海洋環境下で調査した結果、79 鍵種を特定した。沿岸域、外洋域にそれぞれ特異的な鍵種と、両海域に共通な鍵種の存在が示唆された。また、それらの時空間的な変動と環境条件の変動から、生態的ニッチの違いにより鍵種をタイプ分けした。

(2) 鍵種の動態を定量的に解析するために、

BIC-FISH 法 (BrdU immunocytochemistry FISH 法) を開発し、自然条件下及びメソコズム実験下における植物プランクトンブルームにおける細菌群集の増殖応答パターンを解析、*Roseobacter* と *Cytophaga* 系統群の増殖の特性と出現のタイミングの違いを明らかにした。また、実際に応答している種類の詳細な系統関係を明らかにすることが出来た。

(3) 南太平洋のトランセクト試料については、超並列シーケンスと呼ばれる次世代遺伝子解析技術を用いて、20 万個にも及ぶ大量の 16SrRNA 遺伝子断片の配列を決定し、数千の異なる遺伝子タイプを特定することに成功した。ここでも、ヌクレオシドトレーサー法を組み合わせ、従来法では検出できない希少種にも海域毎に活発に増殖しているものが存在することを明らかにした。これらのデータは、微生物の多様性が生態系の安定性や復元性に果たす役割を理解する上での重要な知見を与えるものである。

5. 主な発表論文等

(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 6 件)

Taniguchi, A. and Hamasaki, K. (2008) "Community structures of actively growing bacteria shift along a north-south transect in the western North Pacific." *Environ Microb.*, 10:1007-1017 査読有

浜崎恒二 (2007) 「海洋における光合成細菌の分布と微生物海洋学への展望」日本微生物生態学会誌 22: 5-14 査読無

Hamasaki, K., Taniguchi, A., Tada, Y., Long, RA and Azam, F. (2007) "Actively growing bacteria in the Inland Sea of Japan identified by combined bromodeoxyuridine immunocapture and denaturing gradient gel electrophoresis." *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 2787-2798 査読有

Fukuda, H., Sohrin, R., Nagata, T. and Koike, I., (2007) Size distribution and biomass of nanoflagellates in meso- and bathypelagic layers of the subarctic Pacific. *Aquatic Microbial Ecology* 46: 203-207 査読有

Motegi, C. and Nagata, T. (2007) Enhancement of viral production by addition of nitrogen or nitrogen plus carbon in subtropical surface waters of the South Pacific. *Aquatic Microbial Ecology* 48: 27-34 査読有

Hamasaki, K. (2006) Comparison of bromodeoxyuridine immunoassay with tritiated thymidine radioassay for measuring bacterial productivity in oceanic waters. *J. Oceanogr. J. Oceanogr.* 62:793-799 査読有

[学会発表](計 25件)

Tada, Y, Taniguchi A, Hamasaki, K “Drastic change of the biomass and productivity of major subgroups of bacteria along a steep environmental gradient in the Southern Ocean frontal systems.” SCAR Biology Symposium, Sapporo, 2009

Okamoto, A, Tada, Y, Kasamatsu, N, Hamasaki, K “Identification of actively growing bacteria in seawater supplemented with dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in the Southern Ocean.” SCAR Biology Symposium, Sapporo, 2009

Hamasaki, K, Taniguchi, A “Massively Parallel Sequencing of 16S rRNA V6 Regions Revealed the Diversity of Active-but-Rare Microbial Populations in Oceanic Pelagic Ecosystems” 1st Korea-Japan Symposium on Microbial Ecology, Jeju, 2009,5.29

Hamasaki, K, Taniguchi, A “Diversity of active microbial communities in the South Pacific Ocean revealed by bromodeoxyuridine labeling and 454 tag sequencing technology” DNA Barcoding of Marine Biodiversity (MarBOL), Tokyo, 2009,5.21

Hamasaki, K, Taniguchi, A “Diversity of active microbial communities in surface seawaters along a north-south transect in the South Pacific Ocean” International Census of Marine Microbes 454 Users Spring Meeting, Woods Hole, 2009,4.6-9

Sato, Y, Fukuda, H, Hamasaki, K “Distribution and abundance of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in temperate neritic water of the Otsuchi Bay, northern Japan” ASLO aquatic science meeting, 2009.2, Niece

多田雄哉, 谷口亮人, 津田敦, 植松光夫, 浜崎恒二 「西部北太平洋植物プランクトンブルームにおける細菌群集の動態解析」日本海洋学会, 東京, 2009

Nishikawa, J, Tada, Y, Wada, M, Hamasaki, K. “Bacterial community structures and luminescence of the fecal pellets of Antarctic krill and salps” XXXI Symposium on Polar Biology, Tokyo, 2008,12.5

Tada, Y, Wada, M, Nishikawa, J, Hamasaki, K. “Bacterial colonization and luminescence on fecal pellets of macrozooplankton” 12th International Symposium on Microbial Ecology, Cairns, 2008,8.20-24,

佐藤由季, 福田秀樹, 谷口亮人, 吉田典明, 浜崎恒二 「中栄養沿岸域における酸素非発生型好気性光合成細菌の現存量の変

動」日本微生物生態学会, 札幌, 2008,10. 谷口亮人, 多田雄哉, 浜崎恒二 「サロマ湖海水細菌群集構造解析 極域海水細菌群はサロマ湖海水で生きていけるか」日本海洋学会, 広島, 2008,9.24-28

多田雄哉, 谷口亮人, 吉田典明, 浜崎恒二 「植物プランクトンブルーム崩壊過程における細菌群集の動態解析」日本海洋学会, 広島, 2008,9.24-28

多田雄哉, 谷口亮人, 津田敦, 植松光夫, 浜崎恒二 「西部北太平洋における植物プランクトンブルーム内外の細菌群集構造」日本海洋学会, 東京, 2008,3.

菅友美, 大林由美子, 池本栄子, 菊池知彦, 浜崎恒二, 木暮一啓 「海洋細菌によるサブミクロン粒子捕獲量と分解酵素活性」日本海洋学会, 東京, 2008,3.

寺西聡子, 谷口亮人, 浜崎恒二, 菊池知彦 「相模湾西部沿岸域における従属栄養性細菌の時空間変動解析 特にその生産力と群集構造について」日本海洋学会, 東京, 2008,3.

谷口亮人, 多田雄哉, 横川太一, 茂手木千晶, ヤン・ヤンヒュイ, 永田 俊, 浜崎恒二 「大規模南北トランゼクトにおける細菌群集構造の空間的変動」日本海洋学会, 沖縄, 2007,9.

菅友美, 徐維那, 池本栄子, 谷口亮人, 多田雄哉, 寺西聡子, 浜崎恒二, 菊池知彦, 木暮一啓 「海洋中のサブミクロン粒子を捕獲する細菌の分布と現存量」日本海洋学会, 沖縄, 2007,9.

浜崎恒二, 多田雄哉, 和田実, 西川淳 「サルバ類糞粒中の微生物叢の解析」日本海洋学会, 沖縄, 2007,9.

佐藤由季, 浜崎恒二 「岩手県大槌湾における酸素非発生型好気性光合成細菌の分離と現存量の推定」日本海洋学会, 沖縄, 2007,9.

多田雄哉, 谷口亮人, 浜崎恒二 「マイクロビーズレイシシステムを用いた海洋細菌の群集構造解析」日本微生物生態学会, 愛媛, 2007,9.

21 Hamasaki, K “Bacterial growth response in seawater environments: application of halogenated nucleoside, bromodeoxyuridine incorporation” 2nd KIOS-ORI Joint Symposium on Marine Science, Pusan, 2006,9.22-23

22 Hamasaki, K, Tada, Y and Taniguchi, A “Monitoring key phylogenetic groups responsible for bacterial production in coastal seawater” 11th International Symposium on Microbial Ecology, Vienna, 2006,8.

23 Taniguchi, A, Hamasaki, K, “Determining key species responsible for bacterial production in coastal and oceanic waters” 11th International Symposium on Microbial Ecology, Vienna,

2006,8.

- 24 谷口亮人, 多田雄哉, 浜崎恒二, 横川太一, 茂手木千晶, 永田 俊「植物プランクトンブルームの形成・崩壊過程における細菌群集の変動 - BUMP-DGGE 法による解析 - 」日本微生物生態学会, 東京, 2006, 10.
- 25 多田雄哉, 谷口亮人, 浜崎恒二「広島湾において活発に増殖する細菌系統群の季節変動」日本微生物生態学会, 東京, 2006, 10.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浜崎 恒二 (HAMASAKI KOJI)
東京大学・海洋研究所・准教授
研究者番号：80277871

(2) 研究分担者

永田 俊 (NAGATA TOSHI)
東京大学・海洋研究所・教授
研究者番号：40183892

(3) 連携研究者

なし