P-054

汽水湖から単離された新奇極小細菌の新種・新属提案に向けた解析

〇前島 由明 1 , 久志本 晃弥 2 , 村口 雄亮 2 , 佐藤 安里紗 1 , 飯野 隆夫 3 , 大熊 盛也 3 , 金原 和秀 2 , 新谷 政己 2

「静大・工」。静大院・総合科技」。3理研・BRC-JCM

【背景と目的】静岡県浜松市にある佐鳴湖は、化学的酸素要求量(COD)の高い汽水湖として 知られており、特殊な微生物生態系が存在することが示唆されてきた。我々は湖水の成分分 析のために、孔径0.22 μmのメンブレンフィルターで湖水をろ過したところ、ろ液にフィル ターを通過可能な微生物が存在した. そこで, これらの微生物の単離を試みたところ, フィル ター通過可能な極小細菌として145株を単離することに成功した。得られた菌株の16S rRNA 遺伝子配列を解読し、相同性検索を行った結果、5株(Ys株, RF111005株, M8-2株, M15 株、M34株)については新規性の高い細菌であることが示唆された。そこで、我々はこの5株 について、系統分類学的に同定して帰属を明らかにすることを目的とした、【方法】上記5株に 対して形態学的性状, 生理・生化学性状, 化学分類性状, 分子系統学的位置の4つの観点から 以下実験・解析を行い、特徴付けを行った。まずグラム染色、2%リンタングステン酸による negative染色法を用いて透過型電子顕微鏡で観察し、形態学的性状を調べた. 温度、pHに対す る生育の可否、オキシダーゼ活性、カタラーゼ活性の評価を行うことで生理・生化学性状を調 べた. 化学分類性状については、キノンタイプと菌体内脂肪酸組成を、それぞれHPLCとMIDI システムにて解析を行った。また、近隣結合法を用いて、16S rRNA遺伝子配列に基づく系統 樹を作成し、分離株の分子系統学的な解析を行った.【結果と考察】5株はいずれもグラム陰性 の好気性桿菌であった. また, 5株の至適生育温度は30℃(Ys, RF111005, M15, M34株)も しくは35℃ (M8-2株), Ys株を除く4株の至適生育pHは7.0 (RF111005株), 7.5 (M8-2, M15, M34株)であった。主要なキノンは、RF111005株を除く4株について、MK-6 (M34) 株) またはMK-7 (Ys, M8-2, M15株) であった. 主要な脂肪酸はiso-C₁₅₀ (Ys, RF111005, M8-2, M15株) またはiso-C_{15:1} G (M34株) であったことから, 各近縁種と同様であるこ とが明らかとなった. また、16S rRNA遺伝子配列に基づく系統分類学的解析から、4株は Bacteroidetes門の Cytophagales 目もしくは Flavobacteriales 目に分類され,近縁種との相同性 は92~94%であった. Deltaproteobacteria綱に分類されたRF111005株は, 最も近縁な培養株 (Geobacter grbiciae TACP-2^T株)との相同性が82%と非常に低かった.