

## 微生物分子温度計：rRNA 遺伝子の G+C 含量をもとにした新規環境温度測定法

○<sup>きむら ひろゆき</sup>木村 浩之・<sup>かとう けんじ</sup>加藤 憲二（静岡大・理・地球）

Microbial molecular thermometer: A new method for estimating environmental temperature based on G+C nucleotide content of rRNA sequences

Hiroyuki Kimura, Kenji Kato

Department of Geosciences, Faculty of Science, Shizuoka University

Key words: environmental temperature, ribosomal RNA gene sequences, G+C contents

【目的】 海底熱水域や深部地下といった極限環境において、微生物が生息する環境の温度を知ることは微生物の生理生態を把握するために非常に重要である。しかし、熱水チムニーの内部や地下深部の温度を測定することは極めて困難である。また、極限環境微生物の単離培養は難しく、その至適生育温度から現場温度を推定することは容易ではない。さらに、リボソーム RNA 遺伝子をターゲットとした系統解析では、様々な環境に由来する環境クローンと近縁関係を示す場合が多く、その解析結果から環境温度を推測することは困難である。

そこで本研究では、原核生物の培養株の至適生育温度とリボソーム RNA の G+C 含量が非常に強い相関を持つことに着目して、その G+C 含量の指標となる 16S rRNA 遺伝子の融解温度 ( $T_m$ ) から環境微生物が生息する現場温度を推定する手法を開発した。

【方法】 海底熱水、表層海水、中層水、深層水、陸上温泉、温泉バイオマット、河川水といったサンプルから微生物のDNAを抽出したのち、原核生物の16S rRNA遺伝子をPCR増幅した。さらに、定量PCRの融解曲線解析によって16S rRNA遺伝子の融解温度を測定した。そして、最小二乗法により16S rRNA遺伝子の融解温度から環境温度を算出するための回帰式を求めた。

【結果および考察】 海底熱水や陸上温泉などの高温環境に由来する原核生物の 16S rRNA 遺伝子は非常に高い融解温度を示した。一方、深層水や河川水など低温環境に由来する原核生物の 16S rRNA 遺伝子の融解温度は低い値を示した。さらに、各種環境サンプルの現場温度と 16S rRNA 遺伝子の融解温度は、それぞれ非常に高い相関を示した。本研究で導き出された回帰式に環境サンプルから得られた 16S rRNA 遺伝子の融解温度を代入することにより、極限環境などの微生物生息域の現場温度を容易に推定できる。本手法は、特に環境温度の把握が非常に困難である地下圏微生物研究などにおいて有効な手法と考えられる。

木村 浩之 (Kimura Hiroyuki) :shkimur@ipc.shizuoka.ac.jp