

## 大陸地殻深くに生息する微生物の分子系統学的特徴 Indigenous Microbial Populations Dominantly Thriving in Deep Terrestrial Crust

伊能 康平<sup>1\*</sup>; 幸塚 麻里子<sup>1</sup>; 鈴木 庸平<sup>1</sup>  
INO, Kohei<sup>1\*</sup>; KOUDUKA, Mariko<sup>1</sup>; SUZUKI, Yohey<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京大学理学系研究科

<sup>1</sup> Graduate School of Science the University of Tokyo

大陸地殻には地球上最大の微生物の生態系が存在すると推定されているが、この生命圏の研究は進んでいない。その原因は掘削による汚染のない地下微生物試料を得るのが技術的に困難であるためだ。汚染を最小限に抑えるには、地表から深く掘削するのではなく、地底から浅く、直接掘削することが有効である。だが、地下施設の建設の際に浅い場所の地下水が基盤岩に侵入し、地下水が本来の状態から化学的、微生物学的に変動を受ける場合が多い。本研究では大陸地殻の大部分を占める花崗岩体中に建設された瑞浪超深地層研究所において、低透水性で立坑から離れており、建設の影響が認められない掘削孔 09MI21 の地下水を採取した。しかし、掘削による環境の擾乱は免れないため、掘削直後の 2009 年から 4 年間に渡り調査を行い、微生物群集が安定するまでの遷移を調べた。地下水中の全菌数は顕微鏡観察により測定した。微生物群集の解析のため、地下水をフィルターでろ過して微生物細胞を集め、DNA を抽出し、サンガー法により 16S rRNA の塩基配列を得た。97% 以上の相同性を持つ配列を一つにまとめて Phylotype とし、系統樹を作り Phylotype 間の系統関係を明らかにした。分岐の信頼性を示すブートストラップ値は最尤法により計算された。2009 年から 2012 年の間の全菌数は  $10^4$  から  $10^5$  cells/ml で時間とともに減少していた。分子系統解析の結果、128 の Phylotype が得られた。掘削直後の 2009 年に Betaproteobacteria 綱の細菌が優占し、その Phylotype は好気的な環境下で水素を酸化する *Hydrogenophaga* 属と極めて近縁だった。2011 年以降は Nitrospirae 門の細菌が安定して優占した。さらに、Nitrospirae 門の Phylotype の系統関係、を環境クローンや培養菌株の塩基配列と比較することで解析した。瑞浪で優占した系統は、瑞浪とは水理地質学および生物地球化学特性が異なる花崗岩体中に建設された、スイスのグリムゼルテストサイトの花崗岩中の地下水にも分布した。また、表層由来の環境クローンと分かれ、深さ 4km の高温の地下水や温泉から検出された地下由来の環境クローンとまとまるとわかった。この Nitrospirae 門に属する細菌は地下環境に適応し、大陸地殻内に普遍的に生息する微生物の可能性が高いと考えられる。

キーワード: 地下微生物, 花崗岩基盤, 16S rRNA 系統解析, 瑞浪超深地層研究所, グリムゼルテストサイト, 地下生命圏  
Keywords: subsurface microbiology, granitic basement, 16S rRNA gene sequencing, Mizunami underground research laboratory, Grimsel Test Site, deep biosphere