

Stable Isotope Probing を使って機能的な微生物種を同定すること。

概 要

微生物種には、生態系で、例えば栄養サイクル中で各々特定の機能を持っています。システムの範囲内で種の少数派だけが人工的な培地で成長するので、微生物の識別はしばしば困難です。DNA 技術はこの問題を解決して、培養が困難な種類も検出できるので、種の多様性に関する知識を広げるのを助けています。しかし、両方の技術には、まだ大きな不利な点があります：それは活動的な微生物と休眠中の微生物を見分けることができないことです、言い換えれば、それはどの種が特定のプロセスに機能的に活発であるかについて、見分けることができません。 ^{13}C と ^{15}N のような安定同位体はこの問題解決を支援します。

安定同位体によるソリューション：安定同位体プロービング(SIP)

特定のプロセスに関係する微生物を同定するために、これらの微生物の好物であるサブストレートを、安定同位体標識して供給します。たとえば、葉、根、リグニン、セルロースのような ^{13}C 標識構成要素で（天然の）成長培地（土壌のような）を改変してサブストレートとして供給します。このサブストレートの上で活発に成長している微生物は増殖し、細胞内外で最終産物を生産します。

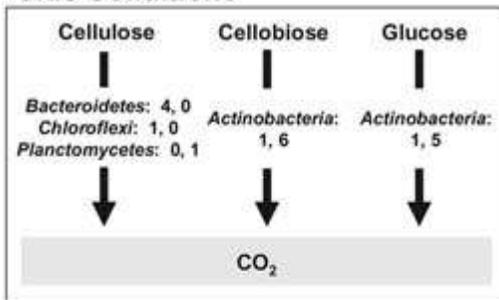
^{13}C 標識サブストレート → 微生物での転換 → ^{13}C -最終産物

^{13}C -RNA (Schellenberger ら、2010)、 ^{13}C -DNA (Radajewski ら、2000)、 ^{13}C -PFLA's (Boschker ら、1998) のような種特異性がある最終産物、または $^{13}\text{CO}_2$ のような特異性が低い化合物 (Raghoebarsing ら、2005) はあるプロセスに含まれる活動的な種を同定するのを助けるかもしれない。

典型的な結果

^{13}C 標識セルロースで土壌を改変し、有酸素状態か無酸素状態の下で培養後、セルロースを利用できる種類によって生産される ^{13}C RNA は、セルロースを利用できない種類を起源とする ^{12}C RNA から分離できます。土壌からの RNA 抽出後、新しく形成された（'重い'） ^{13}C RNA は、密度-勾配遠心分離によって（'軽い'） ^{12}C RNA から分離できます。 ^{13}C RNA は、それからさらに処理され、これらの微生物のシーケンスを既存のデータベースと比較することによって同定され、その後活発な微生物グループまたは種にリンクされます。この方法は、Stable Isotope Probing (SIP) と呼ばれています。

Oxic Conditions



Anoxic Conditions

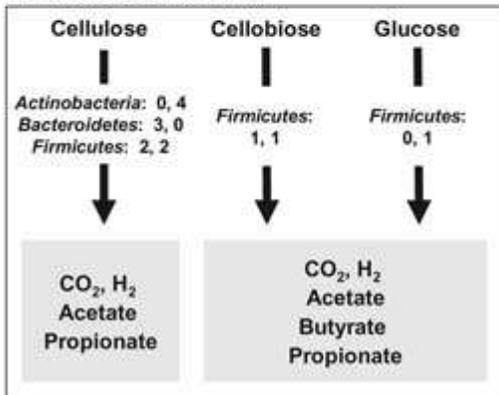


図 1。モデルは有酸素状態下か無酸素状態下で 3 種類の糖類の分解に関係する細菌の門を示しています (Schellenberger ら,2010)。

サブストレートとして ¹³C 標識セルロースを使用したために (Schellenberger ら、2010) 有酸素の状態下では、無酸素の状態下と、セルロースが異なる細菌のグループによって分解されることを証明しました。さらに、彼らの結論は、セルロースの利用に関係する多数の細菌のグループが既知の種類と密接な関係を持っていないことを示しました。

上の例で示された同じ原則は、ヘミセルロース、リグニンまたは全ての植物部品のような複雑な ¹³C 標識サブストレートに当てはまります。生態学または栄養学で安定同位体プロービング (DNA-SIP または RNA-SIP) の使用により、特定の微生物と代謝および生態系プロセスを関連づけるのに、大きな可能性を持っています。

References

Boschker HTS, SC Nold, P Wellsbury, D Bos, W de Graaf, R Pel, RJ Parkes, TE Cappenberg. 1998.

Direct linking of microbial populations to specific biogeochemical processes by ¹³C-labelling of biomarkers.

Nature 392, 801-805.

Radajewski S, P Ineson, NR Parekh, JC Murrell. 2000.

Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology.

Nature 403: 646-649.

Raghoebarsing AA, AJP Smolders, MC Schmid, WIC Rijpstra, M Wolters-Arts, J Derksen, MSM Jetten, S Schouten, JSS

Damste, LPM Lamers, JGM Roelofs, H op den Camp, M Strous. 2005.

Methanotrophic symbionts provide carbon for photosynthesis in peat bogs.

Nature 436: 1153-1156.

Schellenberger S, S Kolb, HL Drake. 2010.

Metabolic responses of novel cellulolytic and saccharolytic agricultural soil Bacteria to oxygen.

Environmental Microbiology 12: 845-861.