

# 琉球大学学術リポジトリ

## 沖縄沿岸域の海洋ウイルス分析

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学21世紀プログラム 公開日: 2007-07-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 米蔵, 誠哲, 永田, 修一, 鈴木, 愛子, Yonekura, Nobuaki メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/850">http://hdl.handle.net/20.500.12000/850</a>

米蔵 誠哲・永田 修一・鈴木 愛子

琉球大学理学部海洋自然科学科

## 【1】海洋ウイルス・バクテリアの存在量・サイズ分布

沖縄島・石垣西表島沿岸のサンゴ礁（瀬底、小浜航門等）・マングローブ（浦内川、慶佐次等）・藻場（白保海岸等）域で採取した海水・汽水中の海洋ウイルス・バクテリアの存在量・サイズ分布を、蛍光染色画像解析法により計数・解析した。蛍光染色画像にバンドパスフィルタを適用後粒子解析により、ウイルス（画像直径 750nm 以下）・バクテリア（それ以上）を選別した。ウイルス・バクテリア個数の相関図より、環境によらずウイルスの存在量はバクテリアの 5.4 倍になることがわかった。ウイルス・バクテリア個数、およびウイルス個数で規格化したバクテリアのサイズ分布には水環境による相違が認められた。

## 【2】ウイルスの全遺伝子量、遺伝子サイズ

沖縄島マングローブ河口域の汽水 20L を採取、バクテリアを除去後 (<220nm)、3 段階限外濾過 (200, 30 & 30 kDa) により 1/40000 に濃縮した。蛍光法により、ウイルスの全遺伝子量は 2 $\mu$ g/L であることが分かった。遺伝子サイズは、Biased Sinusoidal Field Gel Electrophoresis 法 (10-20 h) とマーカー ( $\lambda$  & 5kb ladder) により分析した。20-60 kb、および~150 kb 以上にウイルス由来と考えられるクラスターバンドが確認された。遺伝子サイズ分布の解析のために、分解能・バンド検出感度の向上、および *E. coli* や  $\lambda$  フェージの混入防止が必要であることがわかった。

## 【3】マイクロ流体デバイス単一海洋ウイルス計数

単一海洋ウイルスのハイスループット計数を可能にするマイクロ流体デバイス法の開発研究を行っている。DPSS laser (473nm 20mW)、Si avalanche photodiode、500MHz counter board 等で構成されるシステムを作製した。単一蛍光微粒子 (500nm 以下) については、静止時に 10000 カウント/msec 以上、マイクロ流体デバイスのチャンネル内移動時に 5000 カウント / msec の感度で検出できることを確認した。単一ウイルスの検出には、外部ゲートの導入して時間分解能を上げること、粒子吸着によるバックグラウンド低減のためチャンネル内部の疎水化が必要であることがわかった。