

別府から分離した好熱好酸性古細菌 *Sulfolobus* sp. の培養条件下での安定炭素同位体組成の特徴

Stable carbon isotopic composition of the *Sulfolobus* sp. strain

北島 富美雄 [1], 赤木 右 [2], 村江 達士 [3]

Fumio Kitajima [1], Tasuku Akagi [2], Tatsushi Murae [3]

[1] 九大・理・地球惑星, [2] 東京農工大・農・環境資源, [3] 九大・理・地惑

[1] Earth and Planetary Sci., Kyushu Univ., [2] Fac. Agricul., Tokyo Univ. Agricul. & Technol., [3] Earth and Planetary Sci., Kyushu Univ.

我々は、別府の熱水源から好熱好酸性古細菌を分離し、この菌株を *Sulfolobus* sp. と同定した。また FABMS スペクトルの結果から、この菌株の脂質抽出物には主成分として、glucopyranosylcalditoglycerocaldarchaeol が含まれていると推定した。この菌株を従属栄養培養し、安定炭素同位体組成を封管燃焼法によって測定した。培養- CO_2 ガス作製-測定のプロセスを3回繰り返したところ、 $\Delta^{13}\text{C}(\text{PDB}) = -17.73\text{‰}$ 、 -17.72‰ 、 -17.69‰ とほぼ一致した値が得られた。一方、炭素源の酵母抽出物は、 $\Delta^{13}\text{C} = -20.74\text{‰}$ であり、全菌体は、炭素源よりも重くなり、 $\Delta\Delta^{13}\text{C} = +3.03\text{‰}$ であった。

古細菌は、16S rRNA による系統樹上、真正細菌よりも真核生物に近い一群の生物である。また、上記の系統樹で根元に近く位置し、始源的な形質を保存していると考えられている超好熱菌には古細菌に属するものが多い。古細菌は、その膜脂質に真正細菌とも真核生物とも異なるグリセロールにイソプレノイドがエーテル結合した特徴的な構造の脂質を持つ。この脂質のイソプレノイド部分は、構造的に比較的安定であり、バイオマーカーとして有用であると考えられ、実際に堆積物や原油中から発見されている。

これらの古細菌は、従来、高温の熱水域や高塩分濃度の塩田など、いわゆる“極限的”な環境にのみ棲息すると考えられてきた。しかし、近年、環境中の16S rRNAや脂質の分析から、古細菌は“極限環境”だけでなく、海洋中にも広く分布していることが指摘されるようになった。たとえば、高温にさらされたとは考えられない海洋堆積物や海洋プランクトン性の古細菌から、従来、好酸好熱性古細菌のみが持つと考えられてきた、イソプレノイド鎖の一部が五員環を形成しているエーテル脂質までもが発見されている (DeLong et al. 1998)。このように、類似した構造のエーテル脂質を持つ古細菌が幅広い環境に発見されるようになったことから、エーテル脂質をバイオマーカーとして用いるためには、生産者と構造の関係だけでなく、さらに同位体的な特徴を明らかにしておく必要があると考えられる。

我々は、別府の熱水源から BK4-K1 株と名付けた好熱好酸性古細菌の菌株を分離し、その生育温度範囲、至適温度、生育 pH 範囲、至適 pH、グラム染色、細胞の大きさや形態などの菌学的特徴、抗生物質に対する感受性、脂質抽出物の IR、NMR スペクトルの特徴から、この菌株を *Sulfolobus* sp. と同定した。また、 75°C で培養したこの菌株の脂質抽出物の FABMS スペクトルには、 $M/Z = 1640$ のピークが観察され、脂質抽出物には主成分として、calditoglycerocaldarchaeol の calditol 部分に glucose が結合した、既知の glucopyranosylcalditoglycerocaldarchaeol ($[M+Na]^+ = 1640$ 、1 本の biphytanyl 鎖に 2 つの五員環を持つ; 化合物1) が含まれていると推定した。

この菌株の炭素同位体組成の特徴を調べるため、*Sulfolobus* 培地 (炭素源は酵母抽出物) を用い、 75°C 、pH 2.0 の従属栄養状態で静置培養し、培養17~18日目に集菌した。収穫した全菌体の安定炭素同位体組成を封管燃焼法、double-inlet型質量分析計によって測定した。培養- CO_2 ガス作製-測定のプロセスを3回繰り返して行ったところ、それぞれ、 $\Delta^{13}\text{C}(\text{PDB}) = -17.73\text{‰}$ 、 -17.72‰ 、 -17.69‰ とほぼ一致した値が得られた。これは、少なくとも上記の培養条件下では、BK4-K1株は一定の炭素同位体組成を持つことを示している。一方、炭素源として用いた酵母抽出物 (和光純薬工業製) の炭素同位体組成は、 $\Delta^{13}\text{C}(\text{PDB}) = -20.74\text{‰}$ であり、全菌体の炭素同位体比は、炭素源の酵母抽出物よりも重くなり、 $\Delta\Delta^{13}\text{C} = +3.03\text{‰}$ であるという結果が得られた。これは、この菌株の基質摂取・増殖の過程における同位体効果であるか、あるいはこの菌株が酵母抽出物中の元々重い同位体に富む物質を主に基質として利用しているためであると考えられるが、海洋プランクトン性の古細菌が炭水化物またはタンパク質などの重い同位体に富む基質を従属栄養的に摂取している可能性が指摘されている (Hoefs et al. 1997) ことを考慮すると、後者の方が可能性が高い。

