

深度地下環境からの低温菌の分離と同定

Isolation and Characterization of Psychrotrophs from Subterranean Environment

跡見 晴幸 [1], Naeem Rashid [1], 江崎 聡 [1], 今中 忠行 [1]

Haruyuki Atomi [1], Naeem Rashid [1], Satoshi Ezaki [1], Tadayuki Imanaka [1]

[1] 京大院工、合生化

[1] Dept. Synth. Chem. & Biol. Chem., Grad. School Eng., Kyoto Univ.

<http://synchem1.synchem.kyoto-u.ac.jp/imhome/index>

我々は、地下深度の水および土壌サンプルを取得し、微生物の分離を試みた結果、低温菌を2株、独立栄養細菌を3株分離することができた。低温菌の1つ、SN16A株は-5 から37 で生育し、もう一方のKB700A株は-10 から30 で生育した。KB700A株の16S rRNAは*Pseudomonas marginalis*のものと98.7%の相同性を有し、本菌は*Pseudomonas*属に属することが示唆された。一方、SN16A株の16S rRNAは最も高い相同性を示すものでも*Arthrobacter globiformis*の95.4%であり、新属新種の微生物であることが示唆された。

地球容積の主体である深度地下（地下50m以深）における生態系の理解は、それまで地下極限環境は無菌状態であると信じられていたため、ほとんど為されていないと言って良い。最近我々は、超好熱菌、石油分解菌など地下から地表に出現したとも予想される嫌気性菌を分離しており、深度地下には未知の生物が多種類存在している可能性が示唆され始めた。そこで我々は、深度地下の極限環境における微生物相を解明し、物質循環系を明らかにするという視野のもと、広く微生物資源の探索を行うとともに、特殊能力を有する微生物の解析と利用に関する研究を行っていきたいと考えている。

本研究では、地下深度10メートルから1800メートルまでの水および土壌サンプルを取得し、微生物の分離を試みた。好気条件下では従属栄養培地、嫌気条件下では気相の二酸化炭素が唯一の炭素源となるような独立栄養培地を用い、4、30、37 で培養を行った。その結果、低温菌を2株、独立栄養細菌を3株分離することができた。低温菌の1つ、SN16A株は-5 から37 で生育し、至適生育温度は25 から30 の間であった。もう一方のKB700A株は-10 から30 で生育し、20 から30 の間での増殖速度に差はなかったが、37 では生育できなかった。特にKB700A株の-5 での比増殖速度は0.314/dayと高く、菌体濃度は定常期で約OD₆₆₀ = 2.5となった。そこでこの2株を走査型、透過型電子顕微鏡により観察し、また菌学的な性質を明らかにした。双方ともに2-3 μmの長さをもつ桿菌であり、SN16A株はグラム陽性菌、KB700A株はグラム陰性菌であった。さらに、SN16A株、KB700A株の16S rRNAのクローニングおよび塩基配列を決定したところ、KB700A株の16S rRNAは*Pseudomonas marginalis*のものと98.7%の相同性を有し、菌学的性質と合わせて、KB700A株は*Pseudomonas*属に属することが示唆された。一方、SN16A株の16S rRNAは最も高い相同性を示すものでも*Arthrobacter globiformis*の95.4%であり、新属新種の微生物であることが強く示唆された。KB700A株、SN16A株ともにプレートアッセーでリパーゼ、アミラーゼ、プロテアーゼなどの有用な加水分解酵素を産生していることが示された。

KB700A株はまた、30 で水素をエネルギー源として、二酸化炭素を炭素源として独立栄養増殖を示した。独立栄養条件下でのKB700A株の無細胞抽出液には顕著なATP-依存型クエン酸リアーゼ活性が検出できたので、本菌は還元型TCA回路により炭酸を固定していることが示唆された。また好気従属栄養条件下ではクエン酸リアーゼ活性が全く見られなかったことからKB700A株の還元型TCA回路は誘導型のものであることが示唆された。以上の結果より、深度地下環境は低温菌、独立栄養細菌などの新規微生物をスクリーニングする際のよい分離源であると考えられる。