

好熱好酸性古細菌の微生物生態とバイオマーカー

Microbial ecosystems of thermoacidophilic archaea and archaeal ether lipids as biomarkers

北島 富美雄[1], 赤木 右[2], 谷本 大[3], 村江 達士[4]

Fumio Kitajima[1], Tasuku Akagi[2], Masaru Tanimoto[3], Tatsushi Murae[4]

[1] 九大院・理・地球惑星, [2] 東京農工大・農・環境資源, [3] 九大・理・地球惑星, [4] 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, [4] Earth and Planetary Sci, Kyushu Univ.

現在営まれている生態系に関するどの情報が、堆積物中にバイオマーカーとして保存されるかを知るため、好熱好酸性古細菌を対象とし、環境条件（温度、pH など）と古細菌の分布状態の関連、バイオマーカー（この場合、エーテル脂質）がどの環境に保存されやすいか、古細菌が摂取する基質と炭素同位体分別の関連を調べた。中性に近い（pH 5.80）熱水源にも *Sulfolobus* 属に近縁の古細菌が棲息し、熱水直下の堆積物中にエーテル脂質が存在することがわかった。基質を変えて従属栄養培養した *Sulfolobus* sp. の全菌体の炭素同位体組成は、どの基質でも炭素源より重くなり、分別の大きさは標準的な範囲内であった。

【はじめに】バイオマーカーという言葉には、様々な側面があるが、分子化石としてのバイオマーカーを対象とする場合、過去の生物活動の復元が重要な目的の一つとなる。そのためには、現在営まれている生態系に関するどの情報が、物質として堆積物中に保存されるかを知る必要がある。我々は、好熱好酸性古細菌を対象とし、環境条件（温度、pH など）と古細菌の分布状態の関連、バイオマーカー（この場合、エーテル脂質）がどの環境に保存されやすいか、古細菌が摂取する基質と炭素同位体分別の関連について検討を行った。

【試料】別府温泉“かまど地獄”（78.3、pH2.48）雲仙地獄（78、pH2.12）霧島温泉の三ヶ所“湯ノ野地獄”（78.0、pH 5.80）“硫黄谷”（70.0、pH 1.91）“八幡地獄”（78.0、pH 2.19）から熱水を採取した。また、霧島温泉の三ヶ所からは、熱水直下の堆積物も採取した。

《方法・結果・考察》《・古細菌の分布とバイオマーカーの保存》

結果と考察 霧島温泉の三ヶ所すべての熱水の集積培養物（L 培地）には、Vancomycin に対する非感受性および脂質の IR、FABMS スペクトルから *Sulfolobus* 属に近縁の古細菌が主に増殖していることが確認された。湯ノ野地獄、硫黄谷の培養物の脂質は別府、雲仙の菌株の脂質と TLC でやや異なる展開パターンを示した。また、三ヶ所すべての堆積物からエーテル脂質が検出された。湯ノ野地獄の pH は中性に近く、この点で好酸性古細菌の生育至適条件から外れるが、このような場所にも *Sulfolobus* 属に近縁の古細菌が棲息し、熱水直下の堆積物中にエーテル脂質が存在することがわかった。詳細は、本講演とは別に発表が予定されているので、そちらを参照して戴きたい。

また、採取後半年以上室温で保存していた土壌を同様に培養したところ、同様の古細菌の増殖が観察された。従って、pH6 前後、室温付近では、*Sulfolobus* は少なくとも半年程度は生残すると推察される。これらの結果からすれば、地理的に離れた極限環境に性質のよく似た好熱好酸性古細菌が分布することは不自然ではない。

《・基質と炭素同位体分別の関連》

炭素同位体組成は、バイオマーカーの生産者の特定、炭素源・食物連鎖の推定、炭酸固定経路の判別などに利用されるが、この場合、対象生物およびエンドメンバーに相当する基質の炭素同位体組成が必要であると同時に、炭素固定や摂餌における同位体分別効果に関する情報が必要である。また、Abraham ら（1998）によれば、炭素同位体分別の大きさは基質によって大きく異なる場合がある。我々は、別府から分離し、*Sulfolobus* sp. と同定した菌株（BK4-K1 株と名付けた）と雲仙から分離し、U-6 株と名付けた菌株（*Calditol* を含むため、*Sulfolobus* 属に近縁と推定される）を用い、基質と同位体分別の関連について検討した。

方法 各菌株を従属栄養的に静置培養（*Sulfolobus* 培地、75、pH2.0）し、培養 17~18 日後（定常期）に集菌した。収穫した全菌体の炭素同位体組成を封管燃焼法、Dual-inlet 型質量分析計によって測定した。

結果と考察 全菌体の炭素同位体組成は、どの基質でも炭素源より重くなった。また、分別の大きさは、僅かではあるが各基質によって異なっていた。Sucrose の場合、 ^{13}C (Total cell-Substrate)=+2.13 (BK4-K1 株)、+2.29 (U-6 株) %であり、Glutamine で、 ^{13}C =+4.34 (U-6 株) %、酵母エキスで ^{13}C = +3.03 (BK4-K1 株)、+2.04 (U-6 株) %であった。Abraham ら（1998）は、*Fusarium solani*（真菌）では、Mannose、Lactose を基質とした場合、バイオマスは、炭素源よりも重くなるが、Glucose の場合は、逆に炭素源よりも軽くなると報告

している。Sulfolobus sp.では、Glucoseの場合、 $\delta^{13}\text{C} = +3.61$ (BK4-K1 株)、 $+3.86$ (U-6 株) ‰となり、分別の大きさは他の基質とやや異なるが、炭素源よりも軽くなることはなかった。これらの分別の大きさは、真正細菌に属する *Pseudomonas aeruginosa* ($\delta^{13}\text{C} (\text{Total cell-Substrate}) = +2.3\text{‰}$; 炭素源、Glucose) *Escherichia coli* ($\delta^{13}\text{C} (\text{Total cell-Substrate}) = -0.6\text{‰}$; 炭素源、Glucose) と比べて、その差は数‰程度である。従属栄養における *Sulfolobus sp.*の炭素同位体分別の大きさは標準的な範囲内にあると言える。