

## 好熱好酸性古細菌の生息環境と堆積物中の残留脂質成分の相関 霧島地域の場合

### On distribution of thermoacidophilic archaea and preservation of archaeal ether lipids in sediments in Kirishima hot springs.

# 谷本 大[1], 北島 富美雄[2], 村江 達士[3]

# Masaru Tanimoto[1], Fumio Kitajima[2], Tatsushi Murae[3]

[1] 九大・理・地球惑星, [2] 九大院・理・地球惑星, [3] 九大・理・地惑

[1] Earth and Planetary Sci., Kyushu Univ, [2] Earth and Planetary Sci., Kyushu Univ., [3] Earth and Planetary Sci, Kyushu Univ.

霧島温泉から採取した熱水を集積培養し、増殖した菌体の脂質組成と熱水直下の堆積物中の脂質組成を比較した。堆積物からの抽出は極性基部分を保存したまま検出するため、穏和な方法で行った。集積培養(L培地)の結果、すべての試料に *Sulfolobus* 属に近縁の菌の増殖が認められた。中性脂質が集積培養物と堆積物から共通に検出され、集積培養物中からは *Sulfolobales* 目に特有のカルジトールを含む糖脂質が検出された。また、*Sulfolobus* の生育至適条件から外れている中性に近い熱水試料からも *Sulfolobus* 属に近縁の古細菌の増殖が確認された。

#### <はじめに>

16S rRNA を用いた系統樹によると、生物界は真正細菌、古細菌、真核生物に分けられ、中でも古細菌は系統樹の最初の分岐点(最後の共通祖先)に近く、枝も短い。古細菌のエーテル脂質は構造的に比較的安定であり、バイオマーカーとして利用される。本研究では、熱水から集積培養した菌体の脂質組成と、堆積物中に保存される脂質組成を比較することにより、古細菌の脂質がどのような環境下において、どの程度保存されるのかを検討した。このことによって、古細菌のエーテル脂質をより精度の高い指標として用いることを目指している。

#### <実験方法>

鹿児島県霧島温泉にある硫黄谷、湯ノ野地獄(pH5.80)及び八幡地獄にて、熱水及び熱水直下の堆積物を採取した。陸水の好熱性古細菌は好酸性(至適条件 pH1~3)であることが多いが、湯ノ野地獄の熱水はむしろ中性に近く、好酸性古細菌の生育至適条件からは外れている。熱水をL培地、サーモプラズマ培地に添加し、集積培養を行った。L培地に増殖した古細菌の脂質をCHCl<sub>3</sub>:MeOH(1:2)で超音波により抽出した。堆積物はヘキサンの硫黄を除去した後、CHCl<sub>3</sub>:MeOH(1:2)で抽出した。堆積物中のエーテル脂質の分析では、試料を部分的に分解して、生じたイソプレノイド部分のみを対象とすることが多い。しかし、*Sulfolobales* 目に特有のカルジトールや *Thermoplasma* 属に特有のグロースなど、極性基部分はより細かい分類群の化学的指標となる。そこで、今回の実験では、極性基部分を保存したまま検出するために、穏和な抽出を行った。分析はTLC、IR、FABMSにて行った。

#### <結果・考察>

熱水を用いた集積培養の結果、すべてのサンプルについてL培地では菌の増殖が認められた。この菌は、バンコマイシンに増殖を阻害されず、また、全脂質抽出物の赤外スペクトルにはエステルカルボニルの吸収が見られなかった。これらのことから、L培地の集積培養物中に増殖しているのは古細菌のみであると判断される。一方、サーモプラズマ培地ではどのサンプルでも増殖が見られなかった。また、L培地の集積培養物と堆積物からの脂質抽出物の赤外スペクトルは、類似した特性吸収帯を示した。さらに、集積培養物中の古細菌の脂質組成と、堆積物中に保存される脂質組成をTLCによって比較すると、熱水の集積培養物からのものと同一物質と思われる脂質が、堆積物中からも検出された。FABMSによる分析では、中性脂質が集積培養物と堆積物から共通に検出され、また、集積培養物中からは *Sulfolobales* 目に特有のカルジトールを含む糖脂質が検出された。湯ノ野地獄のサンプルに *Sulfolobus* 属に近縁の古細菌が増殖してきたことから、*Sulfolobus* の生育至適条件から外れている環境にも、この古細菌に近縁の古細菌が生息していることがわかった。また、アントロン試薬の呈色から、糖脂質にも集積培養物と堆積物に共通の物質が含まれていることが示唆された。現在、抽出物から中性脂質、糖脂質の分取を行い、再度分析し、堆積物中からの糖脂質の検出を目指している。湯ノ野地獄のサンプルの結果から考えて、エーテル型脂質が保存されやすい環境は、古細菌の生育至適条件とは異なる可能性がある。