

## 南極昭和基地周辺土壌のホスファターゼ活性

## Phosphatase activities in soils sampled near Showa Base, Antarctica

# 佐藤 修司 [1]; 栗原 広成 [2]; 高野 淑識 [3]; 福井 学 [4]; 金子 竹男 [5]; 小林 憲正 [6]

# Shuji Sato[1]; Hironari Kurihara[2]; Yoshinori Takano[3]; Manabu Fukui[4]; Takeo Kaneko[5]; Kensei Kobayashi[6]

[1] 横浜国大・院工; [2] 横浜国大・院工・先端物質工学; [3] 海洋研究開発機構・IFREE; [4] 北大・低温研; [5] 横浜国大院工; [6] 横浜国大・院工

[1] Dept. Chem. Biochem., Yokohama Natl. Univ.; [2] Dept. of Chem. and Biochem., Yokohama National Univ.; [3] JAMSTEC, IFREE; [4] ILTS, Hokkaido Univ.; [5] Dep. Chem. Biot., Yokohama Natl. Univ.; [6] Dept. Chem. Biotech., Yokohama Natl. Univ.

近年、大気圏、極域、地殻深部などの極限的な環境から盛んな生命活動が報告され、地球生命圏の知見が広がりつつある。この極限的環境には地下生物圏、海底熱水系、高層大気、寒冷環境が挙げられ、このような生物圏フロンティアに生息する生物は進化をとおりて自然が修飾・改変した生体高分子により特殊環境因子に対する耐性を獲得していると考えられている。我々は生物探査のバイオマーカーとして生体分子高分子のひとつであるホスファターゼという酵素に注目している。ホスファターゼとはリン酸エステルを加水分解する酵素で、このリン酸エステルとは核酸や細胞膜の構成分子として不可欠であり、このためホスファターゼも地球生物にとって普遍的なものである。またホスファターゼは他の酵素に比べ頑丈で安定に存在しているため測定しやすい。そこで本研究では極限環境生命圏活動を評価するバイオマーカーとしてホスファターゼ酵素活性に注目し、南極大陸昭和基地周辺の土壌試料中ホスファターゼ活性を測定して極限環境下に生息する微生物が生成するアルカリホスファターゼのキャラクタリゼーションを目的とした。

試料は南極昭和基地周辺の8地点 (Site 1~8) で採取された土壌、ホスファターゼ活性の測定には基質として p-ニトロフェニルリン酸を用いた吸光度法を用いた。土壌試料に pH 6.5、pH 8.0 に調整した修飾ユニバーサル緩衝液、基質溶液を加え、1時間、37℃ でインキュベートして波長 410 nm で吸光度変化を測定した。pH 6.5 および pH 8.0 での測定値をそれぞれ酸性ホスファターゼ (ACP)、アルカリホスファターゼ (ALP) の活性とした。

汚水処理水や食料の飛散による富栄養化が示唆される Site 1, Site 2 で採取された土壌は粘土鉱物などの無機由来のバックグラウンド値 1.30 nmol/min/g-soil より高い活性を示した。Site 8 はアデリーペンギンの営巣地であり人為影響は少なく、この地点の土壌は ACP (酸性ホスファターゼ) 活性値 23.7 nmol/min/g-soil、ALP (アルカリホスファターゼ) 活性値 26.1 nmol/min/g-soil と非常に高い活性を示した。Site 8 土壌ではペンギンの糞によって栄養塩が供給されており、微生物活動が活発におこなわれていると考えられる。

酵素のキャラクタリゼーションのために土壌からの酵素抽出をおこなった。土壌試料に pH 9.0 Tris-HCl 緩衝液を加えて1時間攪拌し酵素を抽出した。抽出液の酵素活性測定にはより高感度な4-メチルウンベリフェリルリン酸を基質とした蛍光光度法を用いた。土壌抽出液を 10~80℃ で1時間インキュベートしたのち pH 8.0 基質溶液を混合、反応させて蛍光波長 451 nm、励起波長 362 nm での蛍光強度時間変化を測定して ALP 酵素活性値を求めた。比較として、横浜国立大学内土壌および海底熱水噴出孔チムニーからの抽出液、E.coli 由来の ALP を用いた。それぞれの酵素活性至適温度は大学内土壌抽出液では 60℃、E.coli 由来 ALP では 55℃ 付近、Site 8 抽出液では 40℃、チムニーは 90℃ 以上となり ALP 活性は環境の温度を反映する結果となった。

また抽出液をゲル濾過クロマトグラフィーにかけて活性分子種の分子量推定や金属イオンの酵素活性に対する影響を調べた。分子量推定ではおよそ 60000 以上のタンパク質が活性を有することがわかり、酵素活性の発現に亜鉛イオンが大きく影響していることがわかった。