

南極昭和基地周辺土壌中のアミノ酸とホスファターゼ活性

Amino acids and phosphatase activity in Antarctic soil samples near Showa base

原 昌史 [1]; 永縄 一樹 [2]; 佐藤 修司 [3]; 金子 竹男 [4]; 三田 肇 [5]; 小川 麻里 [6]; 高野 淑識 [7]; 小林 憲正 [8]

Masashi Hara[1]; kazuki Naganawa[2]; Shuji Sato[3]; Takeo Kaneko[4]; Hajime Mita[5]; Mari Ogawa[6]; Yoshinori Takano[7]; Kensei Kobayashi[8]

[1] 横浜国大・工・物質; [2] 横浜国大・工・物質工; [3] 横浜国大・院工; [4] 横浜国大院工; [5] 福岡工大・工・生命環境; [6] 安田女子大・文・児童教育; [7] 海洋研究開発機構; [8] 横浜国大・院工

[1] YNU; [2] Materials Science and Chemical Engineering, Yokohama National Univ.; [3] Dept. Chem. Biochem., Yokohama Natl. Univ.; [4] Dep. Chem. Biot., Yokohama Natl. Univ.; [5] Fukuoka Inst. Technool.; [6] Yasuda Women's Univ.; [7] JAM-STE; [8] Grad. School Eng., Yokohama Natl. Univ.

南極は寒冷かつ乾燥しており地球生命圏のフロンティアである。本研究では南極昭和基地周辺土壌中のアミノ酸およびホスファターゼ活性を分析し、これらによる極限環境下での微生物活動の評価法について考察した。

南極土壌は、2005年の南極第47次・第49次観測において昭和基地周辺で採取された土壌試料（表面または5-10 cm深）を用いた。比較として通常環境試料（横浜国大キャンパス表土）、炭素質コンドライト（マーチソン隕石）、プランクとして500℃で加熱処理した海砂を用いた。アミノ酸分析用試料はレッチェ製ミキサーMM200により粉碎した。熱水抽出法では試験管に試料0.1 gおよびMilli-Q水1 mLを入れて封管し、ブロックヒーター上で100℃、24 h加熱した。開管後上清をとり、3 mLのMilli-Q水で洗浄したものと合わせて遠心乾燥した。HF分解法ではサンプル0.1 gをテフロン容器に入れ、5 M HF-0.1 M HClを加えて密閉し、110℃で24時間加熱分解した。両者は加熱乾固後、6 M 塩酸1 mLで110℃で24時間酸加水分解した後、AG-50W-X8で脱塩・分画し、陽イオン交換HPLCでアミノ酸を測定した。またHF分解物は酸加水分解、クロロホルメイトを用いた誘導体化後GC/MSで分析し、アミノ酸のD/L比を測定した。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、土壌と基質溶液を直接混合して反応させた。また、土壌試料から酵素をTris緩衝液で抽出した後、基質として4-メチルウンベリフェリルリン酸を用いた蛍光強度法を用いることにより、土壌中の酵素のキャラクタリゼーションを行った。

生物活動の影響が少ない南極土壌 (Site 5) のグリシン濃度を HF 分解と熱水抽出法で比較すると HF 分解法では 39.3 nmol/g、熱水抽出法では 9.44 nmol/g で、HF 分解法のほうが約 4 倍高いグリシン濃度が得られた。隕石でも同様の結果が得られた。このことから隕石や土壌からのアミノ酸の抽出には HF 分解法の方が有用であることが示唆された。南極土壌 Site 5 に含まれるグリシン濃度は、キャンパス表土に含まれるグリシン濃度 (12.5 μmol/g) の約 0.03 % だった。一方、ペンギン営巣地に近い Site 8 のグリシン濃度は 6.09 μmol/g と高い値を示すなど、生命活動とアミノ酸濃度とに正の相関が見られた。Ala の D/L 比は、Site 8 で 0.09、Site 5 で 0.18 となり、生物活動の低い地点では、D 体の割合が多い傾向がみられた。

ホスファターゼ活性に関しては、アデリーペンギンの営巣地など動植物活動の大きい地点からは高い活性値が検出された。南極土壌中のホスファターゼの至適温度はおおよそ 37℃ で、大学表土中のホスファターゼの至適温度 60℃ と比較して約 25℃ 低い温度だった。南極土壌ホスファターゼは、大学表土試料や好熱菌 *T. thermophilus* 培養液と比較して耐熱性が著しく低く、50℃ の加熱で完全に失活した。ゲルろ過クロマトグラフィーにより、南極土壌中のホスファターゼ活性分子種の平均分子量は約 10 万と推定された。また、酵素活性発現の補因子に亜鉛を用いる金属酵素であることがわかった。また、HIMAC (放医研) で土壌抽出液に重粒子線 (He, Ne, C) を照射してホスファターゼの放射線耐性を調べたところ、南極土壌中の酵素の方が大学表土中の酵素や *E. coli* 由来酵素よりも放射線耐性を有した。

以上の結果はアミノ酸濃度、その D/L 比、ホスファターゼ活性値やその酵素特性が生物活動の指標となりうることを示唆するものである。