

好塩性アーキアに特徴的な C₂₀-C₂₅ ジエーテルの分析? 幾つかの好塩性アーキアの生育環境による脂質成分変化 Analysis of C₂₀-C₂₅ isoprenoidal diether of halophilic archaea-lipid content changes in the incubation

田上 諒¹, 山内 敬明^{2*}TANOUE, Ryo¹, Noriaki YAMAUCHI^{2*}¹九州大学大学院理学研究科地球惑星科学専攻, ²九州大学大学院理学研究院地球惑星科学部門¹Dept. Earth and Planetari Sci., Grad. School Sci., Kyushu Univ., ²Dept. Earth and Planetari Sci., Fac. Sci., Kyushu Univ.

アーキア(古細菌)は、海底の熱水噴出口(高温, 低 pH), 底泥(無酸素), 塩田(高い塩濃度)といった他の生物の生育が困難な環境に多く存在する微生物で, 16SrRNA による分子系統樹や, 高温, 低 pH での生育が原始地球環境と類似すると想定されることなどから, 生命の起源を探る為のツールとして, 極めて重要な微生物である。好塩性アーキアは, 通常生物のグリセリンと脂肪酸がエステル結合したものでなくグリセリンとイソプレノイドと呼ばれる C₅ 単位が重合した C₂₀ の枝分かれ炭化水素がエーテル結合した C₂₀-C₂₀ ジエーテル(アーキオール)(1)が脂質の主成分である。さらに, 他の古細菌にはほとんど見られない特徴的な C₂₀-C₂₅ ジエーテル(2)が存在する。好塩性アーキアは岩塩や高塩濃度環境での存在が示されているので, C₂₀-C₂₅ ジエーテル脂質は高塩濃度環境としてのバイオマーカーとしての利用の可能性が考えられる。一方, 沿岸域生物圏でのバイオマス推定は例がなく, 従ってこういったごく“普通”の環境での好塩性アーキアがどの程度この生物圏に影響をおよぼしているのかは不明である。好塩性古細菌の環境耐性を考え, 本微生物のごく普通の沿岸域でバイオマス推定を, 脂質構造の特徴に注目し, 有機物の微量迅速分析という典型的な有機地球化学的手法で明らかにしたいと考えている。

さて, 好熱好酸性古細菌においては, テトラエーテル脂質に五員環化合物が存在し, 温度に対しては五員環の数と五員環化合物の割合が多くなるように変化することが特徴的で, これが高温耐性の一つとされる。また南極で発見された好冷性アーキアは, 脂質主成分は 1 であるが低温で二重結合を 1 の中間に持つような脂質の割合が増大することが示されている。すでに予備の実験で我々は *N. pallidum* JCM 8980 では 1 と 2 の存在比が培養条件により変化することを示唆する結果を得ているが一方アーキアの環境変化に対応する膜成分変化は極性基変化の影響が大きいとする説も有る。そこで, 好塩性古細菌の環境変化に対応するコア脂質部分の変化について 2 種の性質がやや異なる種について, 生育条件変化による脂質成分の変化を検討した。

微生物 *Natronomonas pharaonis* JCM 8858 は, 好アルカリ性古細菌で至適条件が pH 8.5 という特徴があり, その他(温度 37 °, NaCl 濃度は 20% 程度)は JCM 8980 とよく似た至適条件を持つ。この好塩性古細菌培地 300 ml (カザミノ酸 4.5 g, クエン酸ナトリウム 0.9 g, グルタミン酸 0.75 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.75g, KCl 0.6 g, NaCl 20%) に, *N. pharaonis* を 1 ml 加え 12 日間培養し(この条件が定常期(またはその直前)というのを増殖曲線観察で確認), 遠心分離にて集菌, Bligh-Dyer 法にて脂質抽出の後溶媒を除いて, 3% HCl-MeOH, 引き続き 7 M NaOH を加えて加水分解した。得られた脂質コアはシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて hexane, hexane-ethyl acetate (10:1), hexane-ethyl acetate (2:1) で精製, hexane-ethyl acetate (10:1) 溶出分(約 1~1.5 mg)を ESI-MS にて分析した。温度としては 27 度から 42 度, 温度 37 度でかつ pH を変化させるという条件で培養を行い, 脂質を分析した。まず, 低温(27 °)で増殖は著しく遅く, ほぼ 3 倍の日数を要した。その他でこのような著しい増殖度の変化は見られなかった。文献で報告されている 1 と 2 の存在比は本実験による ESI-MS 分析においてもほぼ確保されていた。さらに条件を変化させた場合, 高温で 2 の割合が増加する傾向にあった。一方 pH は至適条件でほぼ最大でその他は減少する傾向にあった。一般に好塩性古細菌の耐塩性は主にタンパク質の性質と, 細胞質内の高カリウム濃度で確保されていると言われているが, 温度環境の変化に対応する変化は *N. pallidum* と同様であり, 好塩性古細菌に一般的な温度変化への適応の一端ではないかと考えられる。現在さらに好アルカリ性の古細菌 *Natronobacterium gregoryi* の培養と脂質変化の研究を行っているのでこれについても報告予定である

キーワード: アーキア, バイオマーカー, ジエーテル脂質, 高塩濃度環境

Keywords: halophilic, archaea, biomarker, hypersaline environment