

# 海洋好熱細菌の生態と利用の可能性

京都大学農学部 左子芳彦

地球上の局地的な自然高温環境としては、温泉や火山等があり、従来主に物理、化学、地球化学の立場から研究がなされてきた。しかし近年深海潜水調査船の開発により、200℃を超える海底の熱水噴出孔が海嶺や海溝に沿って分布しており、またそれらの回りには未知の二枚貝や管虫が共生微生物と共に生息していることが明らかになってきた。さらにこれら熱水孔や硫気孔から超好熱菌が発見されるに至り、微生物生態学や分子生物学の分野で注目され研究が始まってきた。しかしながら、これらを利用していく上で基礎となる試料採取や分離・培養上の技術的な課題はなお多く残されており、hardwareにおける技術開発が望まれている。

本講演では、海洋好熱菌の生理・生態ならびにその利用の可能性について紹介する。

## (1) 海底熱水噴出孔における生態系

1977年ガラパゴス諸島の近海、海底2600mにおいて、米国の潜水調査船が海底熱水孔とその回りの奇妙な生物群を発見した。それ以後日本列島の周辺やフィジー近海における海底熱水噴出孔に関する研究調査が開始され、高温極限環境における微生物過程とそれに基づく特殊な生態系の存在が注目を集めてきた。

海底熱水孔は次の様な2種に大別される。すなわち、(1)噴出孔の水温が8-23℃で、流速1-2cm/sの温水型と、(2)噴出孔の温度が200-350℃で、流速1-2m/sの熱水型である。とりわけ(2)型の海底熱水孔から噴出する熱水中には、多量のH<sub>2</sub>SとともにH<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub>、CO、NH<sub>3</sub>、SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>等が含まれている。これ

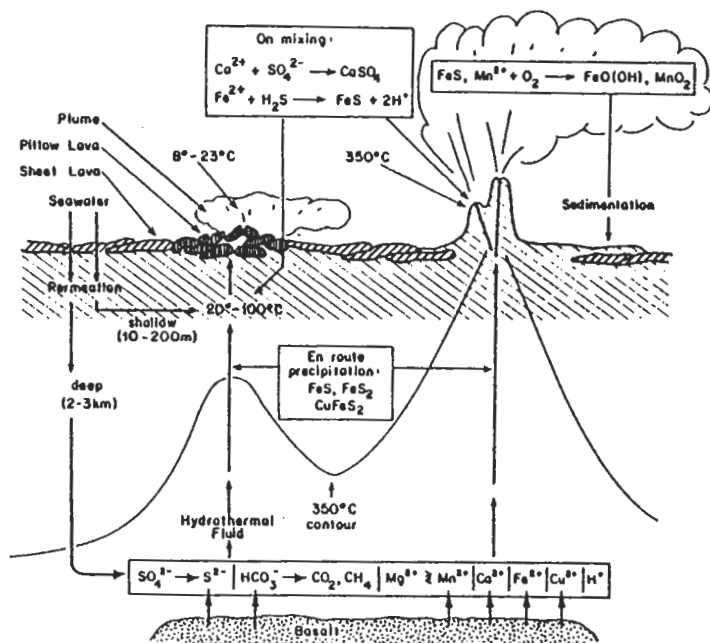


図1 The major geochemical reactions occurring during the circulation of seawater through the earth's crust at the ocean floor spreading centers. The two major types of vents are indicated. (Jannasch & Taylor 1984)

表 1 高度好熱イオウ依存性または好熱好酸性古細菌一覽.

細菌名	形態	至適温度 (°C)	至適 pH	代謝	好気性 嫌気性の別	発見	分離源
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	球菌	59	1-2	有機物酸化	好気性	1970	アメリカの炭鉱ボタ山
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	球菌	70-75	2-3	有機物/S酸化	好気性	1972	イエローストーンの温泉
<i>Sulfolobus sulfataricus</i>	球菌	87	3.5-5	有機物/S酸化	好気性	1980	イタリアの硫気孔
<i>Sulfurococcus mirabilis</i>	球菌	70-75	2-2.6	有機物/S酸化	好気性	1987	カムチャツカの温泉
<i>Desulfurolobus ambivalens</i>	球菌	80	1-3.5	S酸化/S還元	嫌/好気	1986	アイスランドの硫気孔
<i>Acidianus infernus</i>	球菌	90-95	2	S酸化/H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌/好気	1986	硫気孔/海底熱水湧水孔
<i>Acidianus brierleyi</i> (もと <i>Sulfolobus brierleyi</i> )	球菌	70	1.5-2	有機物/S酸化 /H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌/好気	1980	イエローストーンの温泉
<i>Thermoproteus tenax</i>	長桿菌 (V字状, ゴルフクラブ状, 球菌あり)	88	5.5	有機物S呼吸 /H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌気性	1981	アイスランドの硫気孔
<i>Thermoproteus neutrophilus</i>	長桿菌	85	6.8	H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌気性	1983	アイスランドの温泉
<i>Desulfurococcus mucosus</i>	球菌	85	5.5-6	有機物S呼吸	嫌気性	1982	アイスランドの硫気孔
<i>Desulfurococcus mobilis</i>	球菌	85	5.5-6	有機物S呼吸	嫌気性	1982	アイスランドの硫気孔
<i>Thermofilum pendens</i>	糸状	85-90	5-6	有機物S呼吸	嫌気性	1983	アイスランドの硫気孔
<i>Thermodiscus maritimus</i>	円盤状	85	6.5	H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌気性	1983	イタリアの熱海水
<i>Pyrodicticum occultum</i>	円盤状 (細い糸の網目で結合されている)	105	5.5	H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌気性	1983	イタリアの海中の硫気孔
<i>Pyrodicticum brockii</i>	円盤状	105	—	H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌気性	1983	イタリアの海中の硫気孔
<i>Staphylothermus marinus</i>	球菌	85-92	6.5	嫌氣的有機物酸化	嫌気性	1986	イタリア地熱海浜堆積物 および東太平洋海嶺
<i>Thermococcus celer</i>	球菌	88	5.8	有機物S呼吸	嫌気性	1983	イタリアの海浜の硫気孔
<i>Pyrococcus friosus</i>	球菌	100	7	嫌氣的有機物酸化	嫌気性	1986	イタリアの地熱海浜堆積物
<i>Pyrococcus woesei</i>	球菌	103	6	有機物S呼吸	嫌気性	1987	イタリアの海底の硫気孔
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	球菌	83	中性	有機物硫酸呼吸	嫌気性	1987	イタリアの海底熱水湧水孔
<i>Pyrobaculum islandicum</i>	桿菌	100	6	有機物S呼吸 /H <sub>2</sub> +S独立栄養	嫌気性	1987	アイスランドの硫気孔
<i>Pyrobaculum organotrophicum</i>	桿菌	100	6	有機物S呼吸	嫌気性	1987	アイスランド, イタリア, アゾレス諸島の硫気孔

(古賀洋介 1988)

らは海洋底のプレート開裂部の地殻を海水が循環する際に、地熱エネルギーが還元型の無機化合物の形態での化学エネルギーに変換されることにより生じたものである(図1)。また熱水中の多量のCO<sub>2</sub>は、熱水がベント系を循環する際に玄武岩から浸出したものである。

この様な噴出孔周辺の生態系は、熱水中の無機物を効率よく利用する細菌と、それを餌とする特異な生物群集から構成されている。とりわけ種々の化学合成独立栄養細菌は、熱水中の様々な還元型の物質をエネルギー源としてCO<sub>2</sub>を還元・同化して有機化合物を生合成する。これら細菌群は、太陽エネルギーに依存しない深海底熱水口付近における特異な食物連鎖の基礎を支えている。

例えば、種々の硫黄細菌に利用されるH<sub>2</sub>S等の還元型の硫黄化合物が、ここで好氣的な微生物代謝における主要な電子供与体になっているが、その他にメタン、H<sub>2</sub>、Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>等も各々メタン酸化細菌、水素酸化細菌、鉄酸化細菌、マンガン酸化細菌等に利用され、生物生産に寄与していると推測される。また硫黄還元細菌やメタン細菌も生息し、嫌氣的な生化学合成に関係していると考えられている。

## (2) 海底熱水孔からの超好熱菌

超好熱菌の採取や分離・培養法には、高圧、高温および特殊な環境条件に起因する技術的な問題が多く残されており、研究の律速となっている。そのため現在分離されている超好熱菌の殆どが、浅海や海浜の熱水孔や硫気孔から得られている。

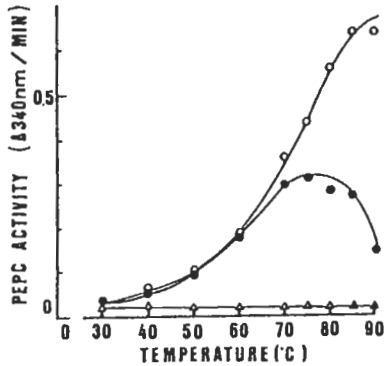


図2 Effect of temperature on PEP-carboxylase activity. The reaction was assayed under standard conditions at various temperature. ●, control; ○, with 1 mM acetyl-CoA; Δ with 2 mM Asp.

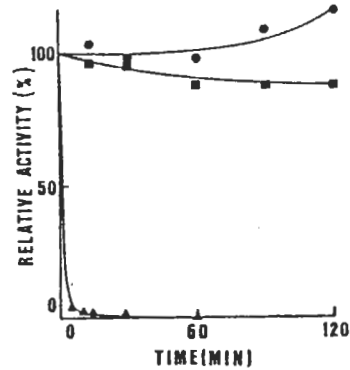


図3 Thermosensitivity of PEP-carboxylase from strain OKD7. The enzyme solution was heated in buffer A, followed by rapid cooling in ice bath. The remaining activity was assayed at 75°C. ●, 75°C; ■, 90°C; ▲, 100°C

(Sako et al. 1989)

一般に超好熱菌 (hyperthermophilic bacteria) とは、至適増殖温度を80°C以上に有する細菌の総称である。報告されている超好熱菌の殆どは第3の生物と言われる古細菌に属し、その多くが硫黄を代謝する嫌気性菌の特徴を有する(表1)。現在知られる限り最高の増殖温度を示す菌は、イタリアの浅い海底熱水孔から分離された *Pyrodictium* 属で、至適増殖温度は105°Cで偏性嫌気性の独立栄養細菌である。海水培地に添加した無機の硫黄とH<sub>2</sub>とCO<sub>2</sub>を資化して増殖する。同様な環境から得られた *Pyrococcus* 属は至適増殖温度が100°Cで、鞭毛を持つ球菌で、嫌気性従属栄養細菌である。一方深海底の熱水孔からは、硫黄を要求する *Staphylothermus marinus* やメタン細菌である *Methanococcus jannaschii* が分離されている。これら古細菌は、16SrRNAの塩基配列、特異なエーテル脂質や細胞壁により真正細菌とは区別されており、微生物学、進化系統学のみならず応用面でも興味深い材料である。

### (3) 好熱菌利用の可能性

従来中等度好熱菌である *Bacillus* 属、*Clostridium* 属や *Thermus* 属を用いて、耐熱酵素 (protease, cellulase, amylase等) やアルコール発酵が工業用として利用されている。最近の話題としては、*T. aquaticus* のDNAポリメラーゼがPCR法に利用され、微量DNAの解析に革新的な方法をもたらした。海洋好熱細菌の生化学的研究は始まったばかりであるが、我々は浅海熱水孔より海洋好熱細菌 (OKD7) を分離し、ホスホエノールピルビン酸にCO<sub>2</sub>を固定しオキザロ酢酸をつくる phosphoenol pyruvate carboxylase を精製しその性質を検討してきた。本酵素の至適反応温度は75-80°Cで、分子量40万のアロステリック酵素である。acetyl-CoAで正の制御を、L-AspやL-malateでの負の制御を受けるが、活性化は75°C以上で顕著であった(図2)。また90°C、2時間の加熱でも殆ど失活せず、極めて耐熱性が高かった(図3)。

現在のところ超好熱細菌の利用例は殆どないが、工業用耐熱酵素、バイオセンサー、診断用試薬、バクテリアリーチング等多くの可能性が考えられる。