特集 —— 深海高圧極限環境における生命現象 ——

深海酵母の利用
— バイオサーファクタントの生産 —

Application of Deep Sea Yeast—Production of Biosurfactants—

小西 正朗

Masa-aki KONISHI

Yeast is promising microbe to applying for brewing, bread-making, and some fermented foods, and to development recently for producing bio-ethanol. Yeast exists also in the deep-sea and the many species have been described from the deep-sea in previous reports. Most of the deep-sea yeasts are “non-conventional yeasts” including approximately 1000 species excepting well-known *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*, in the best of our knowledge. Yeast isolated from the deep-sea often possesses unique metabolic properties. We recently focused on a biosurfactant producing yeast, strain SY62, which was isolated from a depth of 1,156 m in Sagami Bay in Japan. Although the yeast indicated little difference from conventional *Pseudozyma hubeiensis* on taxonomy, the secreted glycolipid-type biosurfactant, mannosylerythritol lipids (MEL), indicated structural differences from those of conventional strains. The structural differences on MEL produced by SY62 resulted in the good hydrophilicity compared to those produced by conventional strains. The results indicated that the deep-sea bio-resources have great potential for exploring novel useful microorganisms and metabolites. The difference of metabolites seemed to be caused by evolution under high-pressure stress in the deep-sea.

[yeast, biosurfactant, mannosylerythritol lipid, *Pseudozyma*, deep-sea]

1. はじめに

酵母は古くから人類に利用されており、最も身近な微生物のひとつと言える。しかしながら、醸造やパン製造に用いられる一部の酵母を除いて、その利用に関する研究は十分とは言えない。特に、深海のような高圧・高塩濃度・低温環境下に生息する酵母においては、未だほとんど応用研究が進んでいないのが現状である。最近の研究で、深海由来の酵母を用いて効率的な物質生産が可能であることがわかってきた。本稿では、酵母の利用に関する研究背景、筆者が最近研究を進めてきた陸生もしくは深海由来の酵母が生産する界面活性物質（バイオサーファクタント，BS）に関する研究を紹介したい。

2. 酵母の利用

人類は有史以前からビール、葡萄酒、清酒などのアルコール飲料に酵母を利用してきた[1]。また、パンを製造する場合にも、独特の食感と風味を与えるのに必須であることは、よく知られている。また、乳酸菌との相性がよく、ロシアのカフカース地方原産のケフィア種のヨーグルト製造においても、重要な役割を果たしている[2]。また、近年では、地球温暖化問題への一処方箋として、バイオマス由来エタノール生産による、化石燃料由来の二酸化炭素排出削減が試みられており、ここでも酵母が利用されている[3]。食品工業分野・エタノール生産によく利用されている酵母のほとんどは、パン酵母やビール酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）と呼ばれており、最もポピュラーな酵母である[1]。その細胞は球形

〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町 2-15 独立行政法人 海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域
Institute of Biogeoscience, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), 2-15 Natsushima-cho
Yokosuka, Kanagawa 237-0061
Electronic address: konishi-masaaki@jamstec.go.jp

～楕円形であり、細胞分裂する際、植物が芽を出すように、母細胞から娘細胞が出芽することから、出芽酵母と呼ばれる (Fig. 1)。また、哺乳類と同様に、細胞内の染色体 DNA が核膜に覆われていることを特徴とする真核生物でありながら、単細胞で増殖が早いなどの利点があるため、古くから遺伝学の実験材料としてもよく使われている。そのため、異種タンパク質発現システムや分子生物学的な実験を行うためのツールも充実している[4]。単に酵母と言った場合、出芽酵母を指すことも多い。

出芽酵母と同様古くから研究されている酵母が分

Fig. 1. Microphotograph of *Saccharomyces cerevisiae*.

裂酵母 (*Schizosaccharomyces* spp.) である。出芽酵母と異なり、細胞は桿状で、分裂する際、中央からくびれ、二分裂する様式を取る。分裂酵母は、タンパク質を構成しているアミノ酸組成が出芽酵母より、人間などの高等生物に近いと言われており、遺伝学分野において出芽酵母の次によく研究されている酵母である。近年では、分裂酵母を用いた異種タンパク質発現システムによる、タンパク質の受託製造が商業化されている[5]。この出芽酵母と分裂酵母が二大酵母であるが、酵母の定義は幅広く、単細胞性を示す真菌類の総称であり、系統学的な分類においては、多岐にわたる種を含んでいる。2大酵母以外の酵母を non-conventional yeast として、区別する場合がある[6]。分類学の専門書によると、non-conventional yeast は 1000 種以上の記載があり

Fig. 2. Molecular structure of MEL. $n=0-14$, MEL-A: $R^1=R^2=CH_3CO-$, MEL-B: $R^1=CH_3CO-$, $R^2=H-$, MEL-C: $R^1=H-$, $R^2=CH_3CO-$.

Fig. 3. Phylogenetic tree of MEL producing yeasts. K_{nuc} indicates evolutionary distances calculated by using Kimura's 2-parameters.

[7], その代謝機能も多彩で, それらを用いた様々な応用研究が行われている。

筆者らは, 最近, BS のひとつ, マンノシルエリスリトールリピッド (MEL) (Fig. 2) を生産する non-conventional yeast について研究してきた[8]。代表的な MEL 生産酵母 *Pseudozyma antarctica* は, 植物油から培地中に 100 g/L 以上の MEL を培地中に蓄積できるため, 量産性に優れている。さらに, 生産した MEL の界面活性剤としての性能が優れているだけでなく, MEL が自己集合特性[9]や抗菌作用[10]・抗腫瘍活性[11,12]などの生理活性を有すること, ヒト抗体[13]やレクチン[14]との結合能があることから, 幅広い分野での産業応用が期待できる[15]。そこで, 菌株保存機関に登録されている酵母や環境中 (主に植物表面) から分離した酵母の系統と生産性の関係を調べたところ, Fig. 3 に示すように, MEL を生産する酵母はすべて *Pseudozyma* 属もしくは *Ustilago* 属のいずれか, もしくはそれらの近縁種であることがわかった[16,17]。さらに, それらが生産する MEL の主成分について, 分子構造を詳細に解析した結果, そのアセチル化度, 脂肪酸側鎖の鎖長等に違いが認められた[16]。また, Fig. 3 に示すように, 生産菌の系統分類と, 生産される MEL 同族体の分子種には相関があり, *P. antarctica* [18], *P. rugulosa* [19], *P. aphidis* [20], *P. parantarctica* [21]は MEL-A を, *P. tsukubaensis* [22], *U. scitaminea* [23]は MEL-B を, *P. hubeiensis* [24], *P. graminicola* [25]は MEL-C を生産する。このように, *Pseudozyma* 属に近縁の新しい MEL 生産酵母を環境中から分離することで, 多様な分子種の MEL を量産できるようになり, その応用範囲も広がることを期待されている。

3. 深海由来の酵母の特徴

深海から分離された酵母は, 筆者の知る限り全て non-conventional yeast である。面白いことに, これらの酵母の多くは陸生の酵母と系統的に近いものも多く, 必ずしも, 系統分類学的に深海由来酵母を陸生の酵母と区別して, 特徴づけることはできない。しかしながら, 深海環境を生息域とする酵母は, 低水温, 高水圧のストレスを受け続けるため, これらのいずれかの物理化学的要因が致死的に働かないような何らかの生理機能を持つことにより生存できると考えられている。そのため, 深海由来酵母は, 特

異な機能を有することがある。例えば, 阿部らが日本海溝の深度 4,500 から 6,500 m の海底泥から分離した *Cryptococcus* 属酵母は, 生物毒性が高い銅イオンに対する高い抵抗性を有することが報告されている[26]。また, 長濱らが相模湾・駿河湾の海底泥から分離した *Kluyveromyces nonfermentans* は, *Kluyveromyces* 属酵母の特徴である発酵性を示さず, 相模湾・駿河湾の固有種であると考えられている[27]。相模湾においては, 有機溶媒耐性のアルカン分解酵母の分離例も報告されている[28]。その中でも, *Candida* 属と類縁と推定される Y40 株は, octane よりも炭素鎖の長いアルカンを資化し, 有機溶媒を含む培地での増殖速度が, 含まない場合のそれよりも, 早いことが報告されている。さらに DNA を指標とした分析手法では, 深海由来環境サンプル中に, これまでに培養されていない未知の真菌類 (カビ・酵母の仲間) が多く存在することが示唆されている[29]。つまり, 深海環境は新しい機能を持った non-conventional yeast の分離源として, 非常に魅力的である。

4. 深海由来酵母による BS の生産

最近の我々の研究で, 深海環境からも, BS 生産酵母が分離できることが分かってきたので, 詳細に紹介したい。先に紹介した *Pseudozyma* 属酵母は植物表面以外にも, 南極の不凍湖であるバンダ湖からも分離された例があり, 代表的な種として *P. antarctica* (Antarctica = 南極) が報告されている[30]。この系統の酵母は, 低温耐性も比較的強く, 深海の低温環境でも活動できる可能性が高いと考えられた。そこで, 深海から分離された酵母ライブラリーの中から, 新規 MEL 生産酵母を探索したところ, 相模湾の深度 1,152 m の海底でサンプリングされたシロウリガイ (*Calyptogena soygae*) の体表から分離された *P. hubeiensis* SY-62 株 (Fig. 4) が MEL を効率的に生産することを見出した[30]。筆者の知る限り, 深海由来のバイオリソースを利用して, BS を量産した例は報告されておらず, 未知の深海バイオリソースの応用研究としては, 大きな進捗である。リボソーム DNA の配列に基づいた分子系統解析では, 枯れ葉より分離された *P. hubeiensis* の標準株と 99% の相同性を示す (Fig. 5)。すなわち, 現在の系統分類学的な同定方法では陸生の近縁株と同種であり, ほとんど違いが認められなかった。しか

Fig. 4. Microphotograph of *P. hubeiensis* SY62.

Fig. 5. Phylogenetic tree of *P. hubeiensis* SY62 and species related by BLAST search. K_{nuc} are calculated as Fig. 3.

しながら、前述のごとく、深海性の酵母は代謝機能に、その系統学的な分類に依存しない特徴がある可能性あるため、生産された MEL の特徴を詳細に調べた。まず、生産された脂質成分を分析するため、塩酸酸性条件下で酢酸エチルを用いて脂質成分を抽出し、薄相クロマトグラフィー分析 (TLC) を実施した。生産された脂質成分は、糖の発色試薬であるアンスロン硫酸試薬に陽性であり、糖脂質であると推定された。Fig. 6 に示すように、陸生の MEL 量産菌 *Pseudozyma rugulosa* NBRC 10877 株が生産しない糖脂質成分 (d, e) も検出された。同種の *P. hubeiensis* KM-59 の場合もこのような糖脂質成分

Fig. 6. Thin-layer chromatography (TLC) patterns of produced BSs. (A), with a neutral mobile phase using chloroform-methanol-water (65:15:2 v/v); (B) with alkali mobile phase using chloroform-methanol-7N ammonium hydroxide (65:15:2, v/v). Lane 1, crude glycolipids produced by *Pseudozyma hubeiensis* SY62; lane 2, crude glycolipids produced by *P. rugulosa* NBRC 10877. Italic alphabets indicate glycolipids produced by *Pseudozyma hubeiensis* SY62. Std. indicates standard MELs prepared by *P. rugulosa* NBRC 10877.

は報告されていない[16]。TLC の展開溶媒にアンモニアを加えて展開した場合、Fig. 6B に示すように、マイナースポット (d, e) が原点付近で移動しなくなった。このことから、これらの成分はカルボキシル基のような酸性解離基を有しており、MEL ではない糖脂質であることが推定された。さらに、生産された MEL の主成分を、カラムクロマトグラフィーで分離し、 ^1H -、 ^{13}C -NMR、MALDI-TOF/MS、GC-MS を用いて詳細な分子構造を推定した。 ^1H -、 ^{13}C -NMR 分析の結果から、陸生の KM-59 株と同様に、主要な MEL 成分は MEL-C (4-O-[4'-O-acetyl-2',3'-di-O-alka (e) noil- β -D-mannopyranosyl]-D-erythritol) と推定された。しかしながら、深海性 SY-62 株が生産する MEL-C の ^1H -NMR のチャート中には、陸生 KM-59 株が生産する MEL-C には見られない特徴的なピークが 2.2 ppm 付近に検出された (Fig. 7)。これは、マンノース 2'位にアセチル基が含まれることを示していた。つまり、長鎖長の脂肪酸鎖の代わりにアセチル基が導入された誘導体が含まれることを示している。そこで、脂肪酸部をメチルエステル化した後、GC-MS により組成分析を行ったところ、陸生の KM-59 株の MEL-C の主要な脂肪酸組成が C_6 、 C_{12} 、 C_{16} であったのに対し、深海由来 SY-62 が生産した MEL-C の場合は C_6 、 C_{10} 、 C_{12} であった (Table 1)。すなわち、導入された脂肪酸成分が、より炭素鎖が短いも

Fig. 7. Partial ^1H -NMR spectra between 0.6 to 2.8 ppm.

Table 1. Fatty acid compositions of various MEL-C's.

Strain	SY-62	KM-59	NBRC 10877
Fatty acid type			
C _{6:0}	24.7	21.3	—
C _{8:0}	—	—	12.6
C _{10:0}	25.8	9.5	49.0
C _{10:1}	—	3.0	6.6
C _{12:0}	22.5	16.3	19.7
C _{12:1}	3.8	5.2	10.3
C _{13:0}	—	1.0	—
C _{14:0}	1.5	0.6	—
C _{14:1}	4.4	0.8	—
C _{14:2}	—	3.8	—
C _{16:1}	2.2	0.4	—
C _{16:2}	8.1	30.3	—
C _{18:1}	1.7	—	—
Unknown	5.3	—	1.8

のとなっていることがわかった。これらの結果から、陸生の *P. hubeiensis* KM-59 や他の MEL 生産酵母によって生じる MEL よりも、脂肪酸側鎖が短いという傾向がみられた。

一般的に解離基を有しない非イオン性界面活性剤の構造物性相関は、Hydrophile-lipophile balance (HLB 値) を用いて、ある程度推定できる[32]。いくつかの計算方法が提案されているが、最も基本的な Griffin の式を示す。

$$\text{HLB} = 20 \times M_w / M_L$$

ここで、 M_w は親水基の分子量、 M_L は親油基の分子量である。HLB 値が大きいほど親水的であり、小さいほど親油的であることを示す。この式を用い

Fig. 8. Surface (air-water) tension vs. concentration plots of the glycolipids in distilled water. Closed circles indicate the values of MEL-C produced by SY62. Open circles indicate the values of MEL-C produced by NBRC 10877.

て HLB 値を計算すると、深海由来酵母 SY62 株が生産する MEL-C は 4.27 となり、既存株である NBRC10877 株の 2.24 と比べて、高くなる。つまり、SY-62 株が生産する MEL-C はより親水的な物性を有していると推定された。そこで、深海酵母から得られた MEL-C と別途用意した陸生酵母 NBRC 10877 株が生産した MEL-C の表面張力値を測定し、臨界ミセル濃度 (CMC) を測定した (Fig. 8)。その結果、SY-62 株が生産した MEL-C の CMC 値は $1.1 \times 10^{-5} \text{ M}$ と推定された。一方、NBRC 10877 株の CMC 値は $9.1 \times 10^{-6} \text{ M}$ であった。一般的に、非イオン性界面活性剤は親水性が増すほど、CMC 値は高くなる傾向がある。したがって、深海由来酵母より得られた MEL-C は従来の生産株で生産した MEL-C よりも親水性が高いと考えられた。親水的な物性を示したにも関わらず、偏光顕微鏡による簡易測定によれば (Fig. 9)、ラメラ液晶相と考えられるテクスチャ (L_α 相) が認められた。新規 MEL-C は MEL の特徴である高い自己集合能を保持していることがわかった。このように、深海由来の酵母を詳細に調べることで、陸生の近縁種と分類学的に区別できないような場合でも、その代謝生産物の組成や構造が異なることがあることがわかってきた。

筆者は、深海微生物のこのような代謝産物の構造的特徴と深海 (海洋) 環境に関連性があるのではないかと考えている。深海から分離された微生物はその脂質成分に高度不飽和脂肪酸を含むなど、脂質代

Fig. 9. Water penetration scans of MEL-C produced by SY62, viewed with and without crossed-polarizing filters. PH image was obtained by phase contact microscopy without crossed-polarizing filters. POL image was obtained by polarized microscopy with crossed-polarizing filters. (a) water, (b) myrrines, (c) lamella phase (L_α), (d) neat.

謝に特徴を有していることが多い[33–36]。また、深海微生物においても、好圧菌の膜脂質中の不飽和が高いことが多いことから、細胞膜中の脂質二重膜の流動性が高圧環境への適応に必要であると考えられてきた。一方で、MELの代謝においても、脂肪酸の分解に関わる β 酸化反応が重要であると考えられている。筆者が知る限り、深海環境と脂肪酸代謝関連酵素の分子進化との関係を示す具体的な報告例はないが、深海由来のMEL生産酵母に関しても、脂質代謝に特徴が見出されたことは、生物進化の観点からも非常に興味深い結果である。

現在、SY-62株のMEL生産効率を検証するため、培養方法を検討している。今回、詳細なデータを示すことはできないが、非常に高い生産性を有することがわかってきており、本酵母株は、産業応用にも十分なポテンシャルをもっていると考えられる。

5. おわりに

深海に生息する微生物は高い圧力ストレスを受けており、その進化の過程で圧力ストレスに対応するための進化を経ている可能性が高い。ゆえに新規性・有用性の高い微生物を取得できることが期待できる。さらに深海バイオリソースを効率的に利活用するためには、圧力などの深海環境が、そこに生息する微生物へどのような影響を与えているか、詳細に調べる必要がある。「圧力」というキーワードでさらに研究を進めるならば、今回取りあげたMEL生産酵母が、圧力ストレスを受けた場合に、MELの生産量や生産されるMELの分子種へどのような影響があるのか、模擬深海環境で細胞の形状や細胞内の代謝にどのような影響があるのかなど、興味は尽きない。しかしながら、微生物培養において、高圧下で環境条件を十分にコントロールすることは難しく、微生物に対する影響を調べにくい。例えば、MEL生産酵母は偏性好気性菌（酸素の供給がないと増殖できない菌）であり、増殖およびMEL生産には、振とう、もしくは攪拌や通気などによる、空気（酸素）の供給が必須である。しかしながら、現在の高圧培養法[37]では、ガス交換が不可能なため、MEL生産に必要な量の空気を供給できない。高圧培養技術に限らず、深海のバイオリソースを研究する上で圧力に関わる周辺技術はまだ脆弱である。圧力技術×生物の研究分野が進歩すれば、深海バイオリソースの開発は飛躍的に進捗すると思われる。

謝 辞

バイオサーファクタントに関する研究を実施するに際し、独立行政法人産業技術総合研究所、北本大博士、森田友岳博士、福岡徳馬博士、井村知弘博士に多大なるご助言、ご協力いただきましたことに深謝いたします。また、本研究の一部は、科研費(21860097)の助成を受けた。

参考文献

- [1] M.A. Harrison: in *Encyclopedia of Microbiology (Third edition)*, ed. M. Schaechter 22 (Elsevier, Amsterdam, 2009).
- [2] B. Cheirsilp, H. Shoji, H. Shimizu, S. Shioya: *J. Biosci. Bioeng.*, **96**, 279 (2003).

- [3] B. Hahn-Hagerdal, K. Karhumaa, C. Fonseca, I. Spencer-Martins, M.F. Gorwa-Grauslund: Appl. Microbiol. Biotechnol., **74**, 937 (2007).
- [4] G. M. Walker: in *Encyclopedia of Microbiology (Third edition)*, ed. M. Schaechter 478 (Elsevier, Amsterdam, 2009).
- [5] S. Ikeda, K. Nikaido, K. Araki, A. Yoshitake, H. Kumagai, A. Isoai: J. Biosci. Bioeng., **98**, 366 (2004).
- [6] J.F.T. Spencer, A.L. Ragout de Spencer, C. Lalue: Appl. Microbiol. Biotechnol., **58**, 147 (2002).
- [7] T. Boekhout, T. Nakase: in *The yeast, a taxonomic study 4 th. Edition*, eds. C. P. Kurtman, J. Fell, 1055 (Elsevier, Amsterdam, 1998).
- [8] D. Kitamoto, T. Morita, T. Fukuoka, M. Konishi, T. Imura: Curr. Opin. Colloid & Interface, **14**, 315 (2009).
- [9] T. Imura, Y. Hikosaka, W. Worakitkanchanakul, H. Sakai, M. Abe, M. Konishi, H. Minamikawa, D. Kitamoto: Langmuir, **23**, 1659 (2007).
- [10] D. Kitamoto, H. Yanagishita, T. Shinbo, T. Nakane, C. Kamisawa, T. Nakahara: J. Biotechnol., **29**, 91 (1993).
- [11] Y. Wakamatsu, X. Zhao, C. Jin, N. Day, M. Shibahara, N. Nomura, T. Nakahara, T. Murata, K.K. Yokoyama: Eur. J. Biochem., **268**, 374 (2001).
- [12] X.X. Zhao, T. Murata, S. Ohno, N. Day, J. Song, N. Nomura, T. Nakahara, K.K. Yokoyama: J. Biol. Chem., **276**, 39903 (2001).
- [13] S. Ito, T. Imura, T. Fukuoka, T. Morita, H. Sakai, M. Abe, D. Kitamoto: Colloid Surf. B, **58**, 165 (2007).
- [14] M. Konishi, T. Imura, T. Morita, T. Fukuoka, D. Kitamoto: Biotechnol. Lett., **29**, 473 (2007).
- [15] 北本大, 森田友岳, 福岡徳馬, 小西正朗, 井村知弘: 生物工学, **86**, 476 (2008).
- [16] M. Konishi, T. Morita, T. Fukuoka, K. Kakugawa, D. Kitamoto: Appl. Microbiol. Biotechnol., **75**, 521 (2007).
- [17] T. Morita, M. Konishi, T. Fukuoka, T. Imura, H. Kitamoto, D. Kitamoto: FEMS Yeast Res., **7**, 286 (2007).
- [18] D. Kitamoto, K. Haneishi, T. Nakahara, T. Tabuchi: Agric. Biol. Chem., **54**, 37 (1990).
- [19] T. Morita, M. Konishi, T. Fukuoka, T. Imura, D. Kitamoto: Appl. Microbiol. Biotechnol., **73**, 305 (2006).
- [20] T. Morita, M. Konishi, T. Fukuoka, T. Imura, D. Kitamoto: Appl. Microbiol. Biotechnol., **74**, 307 (2007).
- [21] T. Morita, T. Fukuoka, M. Konishi, T. Imura, S. Yamamoto, M. Kitagawa, A. Sogabe, D. Kitamoto: Appl. Microbiol. Biotechnol., **83**, 1017 (2009).
- [22] T. Fukuoka, T. Morita, M. Konishi, T. Imura, D. Kitamoto: Carbohydr. Res., **343**, 555 (2008).
- [23] T. Morita, Y. Ishibashi, T. Fukuoka, T. Imura, H. Sakai, M. Abe, D. Kitamoto: Biosci. Biotechnol. Biochem., **73**, 788 (2009).
- [24] M. Konishi, T. Morita, T. Fukuoka, T. Imura, K. Kakugawa, D. Kitamoto: Appl. Microbiol. Biotechnol., **78**, 37 (2008).
- [25] T. Morita, M. Konishi, T. Fukuoka, T. Imura, S. Yamamoto, M. Kitagawa, A. Sogabe, D. Kitamoto: J. Oleo Sci., **57**, 123 (2008).
- [26] F. Abe, T. Miura, T. Nagahama, Y. Yoshida, R. Usami, K. Horikoshi: Biochem. Biosci. Biotechnol., **70**, 296 (2006).
- [27] T. Nagahama, M. Hamamoto, T. Nakase, K. Horikoshi: Int. J. Syst. Bacteriol., **49**, 1899 (1999).
- [28] T. Fukumaki, A. Inoue, K. Moriya K. Horikoshi: Biosci. Biotech. Biochem., **58**, 1784 (1994).
- [29] Y. Nagano, T. Nagahama, Y. Hatada, T. Nunoura, H. Takami, J. Miyazaki, K. Takai K. Horikoshi: Fungal Ecology (in press).
- [30] T.B. Nielsen, M. Ishii, O. Kirk: in *Biotechnological applications of cold-adapted organisms*, eds. R. Margesin, F. Schinner, 49 (Springer, Berlin, 1999).
- [31] M. Konishi, T. Fukuoka, T. Nagahama, T. Morita, T. Imura, D. Kitamoto, Y. Hatada: J. Biosci. Bioeng (in press).
- [32] W.C. Griffin: J. Soc. Cosmetic Chem., **1**, 311 (1949).
- [33] E.F. DeLong, A.A. Yayanos: Appl. Environ. Microbiol., **51**, 730 (1986).
- [34] C.O. Wiresen, H.W. Jannasch, S.G. Wakeham, E.A. Canuel: Current Microbiol., **14**, 319 (1987).
- [35] Y. Nogi, N. Masui, C. Kato: Extremophiles, **2**, 1 (1998).
- [36] S. Raghukumar: Mar. Biotechnol., **10**, 1436 (2008).
- [37] Y. Nogi, C. Kato, K. Horikoshi: Int. J. Syst. Evol. Microbiol., **52**, 1527 (2002).

[2010年6月28日受付, 2010年7月14日受理]

© 2010 日本高圧力学会