好熱性真正細菌と好熱性古細菌の ポリアミン

浜名康栄，細谷隆一

高温という極限環境下で増殖する好熱菌は，真正細菌と古細菌にまたがり，分子進化系統樹上は初期に分岐して現存する原核生物を占めている。好熱菌では，菌体内のタンパク質や脂質が耐熱性構造をとることが知られているが，ゲノム環状DNAやmRNA，rRNA，tRNAなどの核酸構造の熱安定性には高塩基性の長鎖ポリアミンとの結合が欠かせない。菌体内のポリアミン構成は系統分類群（分類階級）の門，綱，目，科，属の各レベルにおける化学分類学的指標の一つとして有益であり，高温環境下での可能性が高い生命の起源や真核生物誕生との関わりなどの興味もつきない。

好熱菌について

好熱菌（好熱性細菌類）は系統分類上はバクテリア（*Bacteria*）かアーキア（*Archaea*）に属している。両者とも原核生物の“細菌”ではあるので，前者に属すれば真正細菌（*Eubacteria*），後者では古細菌（始原菌と称する場合もある）（*Archaeobacteria*）と表記する場合も多い。本稿では両者をまとめて細菌類と表記する。極限環境に適応している細菌類には，好熱菌の他に好冷（性）菌，好酸（性）菌，好アルカリ（性）菌，高度好塩（性）菌，好圧（性）菌などが知られる。好熱菌を高温菌，好冷菌を

低温菌とする場合もある。

好熱性の度合いについては厳密には定義できないが，最適（至適）増殖温度が80℃以上を超好熱菌（hyperthermophile），65～80℃を高度好熱菌（extreme thermophile），45～65℃を中等度好熱菌（moderate thermophile）のように区分される。10～45℃が最適増殖温度の場合は中温菌（常温菌）（mesophile）となる。0～10℃では好冷菌（psychrophile）と呼ばれ，その多くは極地や深海底より分離されている。中温菌でも50℃くらいまで増殖可能な場合は耐熱（性）菌と称される場合もある。“細菌”を扱っているので，「生育」ではなく「増殖」とした。現在登録されている代表的な好熱性の真正細菌と古細菌を表1に示した。超好熱菌と高度好熱菌は進化系統樹の根もと近くの真正細菌と古細菌に多い^(1～4)。中等度好熱菌は，真正細菌ではプロテオバクテリア門やグラム陽性菌群において，古細菌では好酸菌や一部のメタン生成菌において認められる。1つの分岐系統分類群である同一の「門」や「目」の中に，超好熱菌，高度好熱菌，中等度好熱菌が属している場合と，中等度好熱菌と中温菌が属している場合が多い。同一分類群（目や科）の「属」間でも，好熱性の度合いと系統進化の順が相関している^(2,4)。

好熱菌は温泉，火山噴気孔（噴気口），海底熱水鉱床噴

Polyamines of Thermophilic *Eubacteria* and Thermophilic *Archaeobacteria*

Koei HAMANA, Ryuichi HOSOYA, 群馬大学医学部保健学科

出孔、高温工業廃水、高温発熱堆肥など、様々な高温環境より分離されている^(1, 2, 4)。好酸性 (pH 2~4 で増殖) や好アルカリ性 (pH 9~10 で増殖) の基準も明確ではないが、好熱好酸菌は主に酸性温泉より分離されている。好熱好アルカリ菌なども分離されている。深海底熱水噴出孔から分離される好熱硫黄依存性古細菌や好熱メタン生成古細菌は若干の好圧性でもある。

進化系統樹の根もとに近い位置の好熱性真正細菌には嫌気性菌が多く、水素酸化菌 (*Hydrogenobacter* など) や硫酸(塩)還元菌 (*Thermodesulfobacterium* など) がある。光合成真正細菌では、中等度好熱性の *Chloroflexus* (糸状緑色硫黄細菌) や *Thermosynechococcus* (シアノ細菌)、耐熱性の *Chromatium* (紅色硫黄プロテオバクテリア) や *Rhodospirillum* (紅色非硫黄プロテオバクテリア) も知られている。古細菌では、好酸好熱性の *Sulfolobus* の仲間、通性単独栄養型の硫黄酸化菌である。超 (高度) 好熱性の *Thermococcus* や *Desulfurococcus* は従属栄養的に硫黄を還元して増殖する。硫酸(塩)を還元するものとして *Archaeoglobus* が知られている。好熱性菌を含むメタン生成菌は H_2 を CO_2 で酸化してメタンを生成する絶対嫌気性菌で、独立栄養的に増殖できるものが多い。超~高度好熱菌では、真正細菌でも古細菌でも嫌気性で、化学合成独立栄養的に増殖するものが多いが、好気的か嫌気的か、どのような栄養様式か、については多様である^(1~4)。

細菌類におけるポリアミン生成

細菌類には、ジアミノ酪酸、オルニチン、リジンなどの塩基性 L-アミノ酸の脱炭酸により生成するジアミノプロパン (1,3-ジアミノプロパン)、プトレスシン、カダベリンなどのジアミン類、これらへのアミノプロピル基やアミノブチル基の転移反応で生成するスペルミジン、ノルスペルミジン (カルディン)、ホモスペルミジン、アミノプロピルカダベリンなどのトリアミン類や、スペルミン、ノルスペルミン (サーミン)、ホモスペルミン (アミノブチルホモスペルミジン)、サーモスペルミン、アミノプロピルホモスペルミジンなどのテトラアミン類が見いだされている。N¹-アセチルスペルミジン、N¹-アセチルスペルミン、2-ヒドロキシプトレスシン、2-ヒドロキシスペルミジンなどの修飾ポリアミンが検出される場合もある。アルギニンの脱炭酸によるアグマチン、フェニルアラニンの脱炭酸による 2-フェニルエチルアミンも知られている。

ジアミンやアグマチンからのトリアミン生合成経路を

用語解説

ポリアミン: 当初、ポリアミンは第一級アミノ基や第二級アミノ基を3つ以上もつものと定義されたが、現在はジアミン類や第三級アミン構造、第四級アンモニウム塩構造をもつものもポリアミンに含めている。グアニジドアミン類のアグマチンや芳香族アミン類の 2-フェニルエチルアミン (β-フェネチルアミン) なども含める。化学合成した環状ポリアミンも知られている。同一ポリアミンに複数の名称が使用されるものもあり、本文中に別名を ( ) 内に記載した。本文中ではできるだけカタカナ書きとしたが、図表中では英語名の略名やアミノ基やイミノ基間のメチレン基 (CH_2) の数による略号を使用。

図1に示した、プトレスシンアミノプロピル転移酵素 (スペルミジン合成酵素) とスペルミジンアミノプロピル転移酵素 (スペルミン合成酵素) は、脱炭酸 S-アデノシルメチオニンのプロピルアミンをプトレスシン [Put, 4] またはスペルミジン [Spd, 34] のアミノブチル基に転移させて、それぞれスペルミジン、スペルミン [343] を合成する。スペルミンの異性体であるサーモスペルミン [334] はスペルミン合成酵素では合成されない。カダベリンが存在すると、多くの菌がスペルミジン合成酵素により若干のアミノプロピルカダベリンを生成する。さらに、アミノペンチルノルスペルミジン [335]、ビス(アミノプロピル)カダベリン [353] を生成する菌もある。好熱菌では、ジアミノプロパン [Dap, 3] にプロピルアミンを転移したり、ノルスペルミジン [NSpd, 33] にプロピルアミンを転移しておのおのノルスペルミジン、ノルスペルミン [333] を生成するアミノプロピル転移酵素の存在も知られている。三級アミンは四級アミンの中間体として認められ、四級分岐 (分枝) ペンタアミンが主要ポリアミンである好熱菌では、ノルスペルミジンかスペルミジンの中間イミノ基 (NH) にのみ、アミノプロピル基を2個結合して四級分岐ペンタアミンを生成し、直鎖型のテトラアミンやペンタアミンは合成されていない (図2)。L-アスパルティック β-セミアルデヒド (L-ASA) とジアミノプロパンとからのノルスペルミジンの合成、同じく L-ASA とプトレスシンからのスペルミジンの合成が報告されている。さらに、スペルミジンにプロピルアミンを転移して、スペルミンとサーモスペルミンを合成している菌もある。基質のスペルミジンのアミノブチル基とアミノプロピル基の両端と反応できるからであろう。ジアミノプロパンとプトレスシンが存在すれば、この合成系で多様なポリアミンが生成できることになる。

ホモスペルミジン [HSpd, 44] は、プトレスシン2分子から NAD/NADH 酸化還元系を利用してアンモニアを生成しつつ、γ(4)-アミノブチルアルデヒドとプトレス

表 1 ■ 代表的な好熱性真正細菌と好熱性古細菌

Domain *Bacteria* (*Eubacteria*)

Phylum <i>Aquificae</i>	Phylum <i>Nitrospirae</i>
Order <i>Aquificales</i>	<i>Thermodesulfobivrio</i> (高)
Family <i>Aquificaceae</i>	Phylum <i>Dictyoglomi</i>
<i>Thermocrinis</i> (高) <i>Hydrogenobacter</i> (高) <i>Aquifex</i> (超)	<i>Dictyoglomus</i> (高)
<i>Hydrogenobacterium</i> (中) <i>Hydrogenivirga</i> (高)	Phylum <i>Bacteroidetes</i>
Family <i>Hydrogenothermaceae</i>	Order <i>Sphingobacteriales</i>
<i>Persephonella</i> (高) <i>Sulfurihydrogenibium</i> (中)	<i>Rhodothermus</i> (高) <i>Thermonera</i> (中)
<i>Hydrogenothermus</i> (中)	Phylum <i>Cyanobacteria</i>
Family <i>Desulfurobacteriaceae</i>	<i>Thermosynechococcus</i> (中)
<i>Balnerium</i> (高) <i>Thermovibrio</i> (高)	Phylum <i>Proteobacteria</i>
Phylum <i>Thermotogae</i>	Class <i>Alphaproteobacteria</i>
Order <i>Thermotogales</i>	Class <i>Betaproteobacteria</i>
<i>Marinitoga</i> (中) <i>Petrotoga</i> (中) <i>Thermotoga</i> (高)	<i>Hydrogenophilus</i> (中) <i>Thiobacter</i> (中)
<i>Thermosipho</i> (高) <i>Fervidobacterium</i> (高)	Class <i>Gammaproteobacteria</i>
Phylum <i>Thermodesulfobacteria</i>	Class <i>Deltaproteobacteria</i>
Order <i>Thermodesulfobacteriales</i>	<i>Geothermobacter</i> (中) <i>Desulfurella</i> (中) <i>Desulfacinum</i> (中)
<i>Thermodesulfobacterium</i> (中 / 高)	Class <i>Epsilonproteobacteria</i>
<i>Thermodesulfatator</i> (高)	<i>Caminibacter</i> (中) <i>Nitratiruptor</i> (中)
Phylum <i>Deinococcus-Thermus</i>	Phylum <i>Firmicutes</i>
Order <i>Thermales</i>	Order <i>Thermoanaerobacteriales</i>
<i>Thermus</i> (高) <i>Meiothermus</i> (中) <i>Marinithermus</i> (高)	<i>Coprothermobacter</i> (中) <i>Moorella</i> (中)
<i>Oceanithermus</i> (高) <i>Vulcanithermus</i> (高)	<i>Thermoanaeromonas</i> (高) <i>Thermoanaerobacter</i> (中)
Phylum <i>Chloroflexi</i>	<i>Caldanaerobacter</i> (中) <i>Thermoanaerobacterium</i> (中)
Class <i>Chloroflexi</i>	Order <i>Clostridiales</i>
<i>Chloroflexus</i> (中)	<i>Thermaerobacter</i> (高/中) <i>Thermosyntropha</i> (中)
Class <i>Anaerolineae</i>	<i>Thermaerovibrio</i> (中) <i>Thermobrachium</i> (中)
<i>Anaerolinea</i> (中) <i>Caldilinea</i> (中)	<i>Caldicellulosiruptor</i> (高) <i>Desulfotomaculum</i> (中)
Class <i>Thermomicrobia</i>	<i>Caloramator</i> (高)
<i>Sphaerobacter</i> (中) <i>Thermomicrobium</i> (高)	Order <i>Bacillales</i>
Phylum <i>Deferribacteres</i>	<i>Alicyclobacillus</i> (中) <i>Saccharococcus</i> (高)
<i>Deferribacter</i> (中)	<i>Geobacillus</i> (中) <i>Anoxybacillus</i> (中) <i>Thermoactinomyces</i> (中)
	<i>Sulfolobacillus</i> (中)
	Phylum <i>Actinobacteria</i>
	<i>Rubrobacter</i> (中) <i>Thermoleophilum</i> (高) <i>Acidothermus</i> (中)

Domain *Archaea* (*Archaeobacteria*)

Phylum <i>Crenarchaeota</i>
Order <i>Caldisphaerales</i>
<i>Caldisphaera</i> (高)
Order <i>Desulfurococcales</i>
<i>Acidilobus</i> (高) <i>Aeropyrum</i> (超) <i>Desulfurococcus</i> (高/超) <i>Ignicoccus</i> (高/超) <i>Staphylothermus</i> (超) <i>Stetteria</i> (超)
<i>Sulfophobococcus</i> (超) <i>Thermoplasma</i> (超) <i>Thermosphaera</i> (高) <i>Hyperthermus</i> (超) <i>Pyrodicticum</i> (超) <i>Pyrolobus</i> (超)
Order <i>Sulfolobales</i>
<i>Acidianus</i> (高/超) <i>Metallosphaera</i> (高) <i>Stygiolobus</i> (高) <i>Sulfolobus</i> (高) <i>Sulfurisphaera</i> (高)
Order <i>Thermoproteales</i>
<i>Thermophilum</i> (超) <i>Caldivirga</i> (超) <i>Pyrobaculum</i> (超) <i>Thermocladium</i> (高) <i>Thermoproteus</i> (高) <i>Vulcanisaeta</i> (超)
Phylum <i>Euryarchaeota</i>
Order <i>Archaeoglobales</i>
<i>Archaeoglobus</i> (超) <i>Ferroglobus</i> (超) <i>Geoglobus</i> (超)
Order <i>Methanobacteriales</i>
<i>Methanothermobacter</i> (中) <i>Methanothermus</i> (高/超)
Order <i>Methanococcales</i>
<i>Methanocaldococcus</i> (高) <i>Methanoterris</i> (高) <i>Methanothermococcus</i> (中)
Order <i>Methanopyrales</i>
<i>Methanopyrus</i> (超)
Order <i>Thermococcales</i>
<i>Palaeococcus</i> (高) <i>Pyrococcus</i> (超) <i>Thermococcus</i> (高/超)
Order <i>Thermoplasmatales</i>
<i>Picrophilus</i> (中) <i>Thermoplasma</i> (中)
Phylum <i>Nanoarchaeota</i>
<i>Nanoarchaeum</i> (超)

属名まで記載したが、同属内でも種により最適増殖温度には差がある場合もある。中等度好熱性(中) (45~65℃), 高度好熱性(高) (65~80℃), 超好熱性(超) (80℃以上) の区分は厳密なものではない。現時点で *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* の Validation List⁽²⁵⁾ に掲載され、National Center for Biotechnology Information⁽²⁶⁾ に登録されている細菌類を対象とした、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology⁽²⁷⁾ にも記載されている。Domain (ドメイン, 領域) (従来の Kingdom(界)に相当する), Phylum(門), Class(綱), Order(目), Family(科), Genus(属), Species(種)などの分類群の定義は流動的なもので、系統分類学の進歩により変更になる場合がある。

図1 ■ 細菌類における主なジアミン類とトリアミン類の生合成系

シンとの Schiff 塩基形成を経て合成される場合と、ホモスペルミジン合成酵素によりプトレシンとスペルミジンとから生成される場合がある。ホモスペルミジンを主ポリアミンとする細菌類のなかには、ホモスペルミン（アミノブチルホモスペルミジン）が微量成分として検出される場合がある。ホモスペルミジンにアミノプロピル基が転移したアミノプロピルホモスペルミジンを主ポリアミンとするプロテオバクテリアも見いだされている。また、好熱菌ではスペルミジン2分子よりカナバルミン（アミノブチルスペルミジン）[434]を生成する場合もある。好熱性真正細菌 *Thermus* では、アグマチン [Agm] がアミノプロピル化された N¹-アミノプロピルアグマチンからスペルミジンを生成している⁽⁵⁾。中温性の真正細菌のポリアミン生合成系や輸送系については本誌での解説もある^(6,7)。

好熱性とは関係がないが、病原菌や共生菌においては、宿主のポリアミン合成系に依存して、ポリアミン合

成系を欠損している菌もいる。たとえば、昆虫に内部共生する γ-プロテオバクテリアの *Bachnera* は自分ではプトレシンを合成できないが、宿主からのプトレシンからスペルミジンを合成している⁽⁸⁾。

以上のように、細菌類のポリアミン合成系は多様なことが明らかになりつつあるので、好熱性か否かは別にして、各菌群で多様なポリアミン（成分）構成 (polyamine distribution pattern, polyamine distribution profile) を有することになる。菌体内ポリアミン構成は 16S リボソーム RNA 遺伝子 DNA の塩基配列による系統関係とよく対応しているので、真正細菌や古細菌のポリアミン分析は表現型指標 (phenotypic marker) としての化学分類指標 (chemotaxonomic marker) の1つとして注目される^(9,10)。

図2 ■ 主に好熱性細菌類に存在が認められる長直鎖型ポリアミンと分岐型(分枝型)ポリアミン

好熱性(耐熱性)とポリアミン

細菌類の菌体内ポリアミンは、ポリカチオンとして多岐にわたる重要な機能をもつ。ジアミン類は各種酵素反応の活性化に働き、トリアミン類、テトラアミン類、ペンタアミン類、ヘキサアミン類ではゲノム環状DNA構造の維持、mRNAとrRNAによる転写・翻訳活性化、tRNAへの結合などが注目される。細胞壁ペプチドグリカンに共有結合したり、細菌が生産している抗菌性物質や金属(Fe^{3+})キレート(siderophore)の構成成分になっているものもある。好熱菌に検出される高塩基性の長直鎖型や四級分岐(分枝)型のポリアミン(図2)は核酸のリン酸基やタンパク質の酸性アミノ酸残基にイオン結合し、核酸やタンパク質の耐熱性を高めるであろう。原始生命の起源が90℃程度の高温環境下にあった可能性は高く、現存する好熱性真正細菌や好熱性古細菌のポ

リアミン分析から、生命の起源と細菌類の高温環境への適応戦略、ポリアミン合成系と細菌類の系統進化との相関性、などが議論できる。

極限環境の水素イオン濃度(pH)や高塩濃度への適応はイオン輸送系で対応可能であろうし、低温や高圧条件では生体成分の構造は致命的にならないであろう。高温環境に対しては、タンパク質や脂質の構造が耐熱性でなければならないし、核酸構造も高温から保護される必要がある。高GC含量などの塩基組成でのDNAの耐熱性化も知られているし、古細菌においてはDNA結合タンパク質(ヒストン)が結合したヌクレオソーム構造を構築するが、熱安定性にはヌクレオソーム間のDNA領域へのポリアミンの結合も必要となる。熱変性実験からは、環状DNAと線状DNAで差はあるようだが、二重鎖DNAの熱安定性には長直鎖型ポリアミンが効果的で、tRNAの熱安定性には分岐型ポリアミンが効果的と

される⁽¹¹⁾。

「好熱菌はポリアミン研究の宝庫である」⁽¹⁾ ことから、筆者らの研究室では、ATCC (American Type Culture Collection, USA), IAM (東京大学 分子細胞生物学研究所), JCM (理化学研究所, 微生物系統保存施設), NBRC (製品評価技術基盤機構 生物遺伝資源部門), NCIMB (The National Collection of Industrial, Marine and Food Bacteria, UK) などの各国の微生物株保存機関より分譲を受けて、登録されたほとんどの好熱菌のポリアミン分析を行ってきた^(9, 10, 12, 13)。

細菌類のポリアミン分析法

菌体内でジアミン類は遊離状態で存在し、トリアミン類以上のポリアミンは大部分が酸性成分とイオン結合して存在していると考えられている。したがって、集菌、洗浄後の菌体より低温で 0.5 M の酸 (5% 過塩素酸が最適) により抽出する。一部の中温菌ではプトレスシン、カダベリンあるいはスベルミジンがペプチドグリカン中に共有結合している場合があり、菌体を 6 M 塩酸で加水分解後に分析する。好熱菌では共有結合性のポリアミンは確認されていない。筆者らは、図 3 に示すように強酸性陽イオン交換クロマトグラフィーでポリアミン濃縮画分とし、高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) で分離・同定している。食塩・クエン酸緩衝液系にて溶離し、*o*-フタルアルデヒドによるポストラベル法により蛍光検出した。本 HPLC 法は、強酸性 SO₃H 型樹脂カラム (温度 70°C) から食塩の濃度勾配にてポリアミンを溶出する陽イオン交換クロマトグラフィーで、70°C での

図 3 ■ ポリアミンの抽出・濃縮・精製と分析

図 4 ■ ポリアミンの HPLC 分析例 (A, B) と GC 分析例 (C, D)⁽¹³⁾

好熱性真正細菌 *Hydrogenothermus marinus* (A), *Thermotoga petrophila* (B), *Vulcanithermus mediatlanticus* (C) と *Thermanaeromonas toyohensis* (D). ポリアミンの略号, 略式は図 1 と図 2 に記載。

DNA とポリアミンとの結合親和性を想定した方法である (図 4)。疎水性差を利用する ODS カラム使用の逆相 HPLC 法はポリアミン分析には好結果が得られない。濃縮ポリアミン画分はさらに弱酸性陽イオン交換セルロースカラムにて精製し、ヘプタフルオロブチル化後ガスクロマトグラフィー (GC) で分析し (図 4)、質量分析計にて同定した。異性体であるスペルミン [343], サーマスペルミン [334], 三級分岐テトラアミンの N^4 -アミノプロピルスペルミジン [3(3)4] の 3 者は HPLC では分離不可能だが、GC では分離可能である。一方、四級分岐ペンタアミン [3(3)(3)3, 3(3)(3)4] は GC では分析試料処理中に三級分岐テトラアミン [3(3)3, 3(3)4] にまで分解する。薄層クロマトグラフィー (TLC) も有用である⁽⁹⁾。

本 HPLC 分析法⁽¹⁴⁾や GC 分析法⁽¹⁵⁾におけるポリアミンの検出感度は、pmol から nmol の範囲である。増殖能の高い好気性中温菌であれば、100 ml 程度の液体培養菌体から、菌体湿重量あたり 0.01~10 $\mu\text{mol/g}$ の各ポリアミン成分含量が算出可能である。増殖能が低い好熱菌などで、GC による詳細な分析・同定が必要な場合には 10 l 程度の液体培養が必要になる。培養が難しい好熱菌の培養、分析標準としての長直鎖型と分岐型ポリアミンの入手と化学合成、および微量の長鎖ポリアミンの分析能力がこの研究を可能とする課題でもある。

好熱性真正細菌のポリアミン構成

超好熱性菌と高度好熱性水素酸化菌を含む *Aquificales* 目、高度および中等度好熱性嫌気性菌を含む *Thermotogales* 目、高度および中等度好熱性好気性菌を含む *Thermales* 目、高度好熱性硫酸塩還元菌の *Thermodesulfobacteriales* 目、高度および中等度好熱性嫌気性菌を含む *Thermoanaerobacteriales* 目、高度好熱性好気性菌と中等度好熱性硫酸還元菌を含む *Clostridiales* 目、高度好熱性好気性菌と中等度好熱性好酸菌を含む *Bacillales* 目のポリアミン構成について紹介する。進化系統樹上では上記 7 目の順に分岐している。

Aquificales 目に属する超/高度好熱性 *Thermocrinis* (属), *Hydrogenobacter*, *Hydrogenobaculum*, *Aquifex*, *Persephonella*, *Sulfurihydrogenibium*, *Hydrogenothermus*, *Balnearium*, *Thermovibrio* ではスペルミジンと分岐ペンタアミンである N^4 -ビス(アミノプロピル)ノルスベルミジン(テトラキス (3-アミノプロピル)アンモニウム) [3(3)(3)3] が主ポリアミンであった。*Thermotogales* 目の高度好熱性 *Thermotoga* は、ノルスベルミン、スペルミン、カルドペンタミン [3333], ホモカルドペンタミ

ン [3334], カルドヘキサミン [33333] を有していた。直鎖ペンタアミンやヘキサアミンは中等度好熱性の *Marinitoga*, *Petrotoga*, *Thermosiphon*, *Fervidobacterium* では検出されなかった。*Thermodesulfobacteriales* 目に属する *Thermodesulfobacterium*, *Thermodesulfatator* はもう 1 つの分岐ペンタアミンである N^4 -ビス(アミノプロピル)スペルミジン [3(3)(3)4] が主ポリアミンであった。*Thermales* 目では、高度好熱性 *Thermus*, *Marinithermus* がホモスペルミジン、ノルスベルミン、微量の直鎖ペンタアミン、分岐ペンタアミンを含んでいた。中等度好熱性 *Meiothermus* は両ペンタアミンを欠いていた。高度好熱性 *Vulcanithermus* は直鎖ペンタアミンとヘキサアミンを含んでいたが、ホモスペルミジンは欠いていた。中等度好熱性 *Oceanithermus* はスペルミジンとスペルミンのみ含んでいた。*Thermoanaerobacteriales* 目では、2 種類の分岐ペンタアミンが高度好熱性 *Thermanaeromonas* と *Thermoanaerobacter* で検出された。高度好熱性 *Caldanaerobacter* は、 N^4 -ビス(アミノプロピル)ノルスベルミジン [3(3)(3)3] を含んでいた。中等度好熱性 *Thermoanaerobacterium* はペンタアミンを欠いていた。*Clostridiales* 目の高度好熱性 *Thermaerobacter* は N^4 -ビス(アミノプロピル)スペルミジン [3(3)(3)4] を含んでいた。中等度好熱性 *Thermosyntrophus*, *Thermanaerovibrio*, *Thermobrachium*, *Desulfotomaculum*, *Desulfitobacterium*, *Pelotomaculum* (*Clostridiales* 目) と、*Sulfobacillus*, *Alicyclobacillus*, *Anoxybacillus*, *Ureibacillus*, *Thermicanus* (*Bacillales* 目) は、スペルミンを含むがペンタアミンを欠いていた。*Bacillales* 目の *Geobacillus*, *Saccharococcus*, *Bacillus* に属する高度好熱菌ではスペルミンに加えて微量の直鎖型と分岐型のペンタアミンとヘキサアミンを検出した。

その他の高度好熱性菌の *Thermomicrobium* (*Chloroflexi* 門), *Dictyoglomus* (*Dictyoglomi* 門), *Thermodesulfobivrio* (*Nitrospirae* 門) は長直鎖型を、*Thermomoleophilum* (*Actinobacteria* 門) は分岐型を、*Rhodothermus* (*Bacteroidetes* 門) は長直鎖型と分岐型を含有していた。プロテオバクテリア (*Proteobacteria* 門) では、一般的な中温性種はトリアミンまでしか含まないが、中等度好熱性種はスペルミンを有していた。

高度好熱性 *Thermotoga*, *Caldanaerobacter*, *Thermus* などでは、培養温度の 55°C から 80°C への上昇で直鎖ペンタアミンと直鎖ヘキサアミンの含量あるいは分岐ペンタアミン含量が約 100 倍増大した (図 5)。中等度好熱性 *Alicyclobacillus* などではトリアミンやテトラアミンが存在するが、45°C から 60°C への上昇においても大きな変

る。しかし、*Staphylothermus. helenicus* および同目に属する *Stetteria hydrogenophila* は長直鎖型を含有するが、ホモスペルミジンを有しない。*Pyrodictiales* 目の *Pyrodictium* では 3333, 3343 (サーモペンタミン) が、*Hyperthermus* では 3333, 33333 の長直鎖型ポリアミンが存在し、ホモスペルミジンを欠く。*Aeropyrum* は 3333 と 3334 を含んでいた。*Crenarchaeota* 門では有意な量の分岐型ポリアミンは検出されていない。長直鎖型ペンタアミンとホモスペルミジンの存否に属または種レベルで差が認められる。

Euryarchaeota 門では、*Thermococcales* 目の *Thermococcus* と *Pyrococcus* の 2 属は超好熱性硫黄古細菌で、三級テトラアミン [3(3)4] と四級ペンタアミン [3(3)(3)4] が主要ポリアミンであった。*Thermococcus* で、陸上の温泉で分離された陸生種と海底熱水噴出孔から分離された種において四級ペンタアミン含量に大きな差がみられ、最適増殖温度の差によるものではなく、最適増殖塩濃度の差によることが示唆された。中等度好熱好酸性 *Thermoplasmatales* 目の *Thermoplasma*, *Picrophilus*, *Ferroplasma* はスペルミジンとスペルミンのみで、長直鎖型や分岐型ポリアミンを欠く。後 2 者に属する種にはアグマチンが検出される。

メタン生成古細菌は *Euryarchaeota* 門に属していて、*Methanobacteriales* 目、*Methanococcale* 目、*Methanomicrobiales* 目、*Methanosarcinales* 目、*Methanopyrales* 目に区分され、その系統進化的位置は 3 分岐群に分散している。*Methanomicrobiales* 目と *Methanosarcinales* 目は系統的には同一分岐群を構成している。*Methanobacteriales* 目の中等度好熱性 *Methanothermobacter* では低含量のスペルミジンとスペルミンが検出される。超(高度)好熱性 *Methanothermus* ではスペルミジン、スペルミンのほかにアグマチンを検出した。*Methanococcales* 目の中等度好熱性 *Methanothermococcus* に属する種でプトレスシン、スペルミジンが主ポリアミンで、スペルミンを含む場合もある。超好熱性 *Methanocaldococcus* と *Methanotorrus* ではスペルミジン、スペルミンに加えて、三級テトラアミン、四級ペンタアミンを有していた。*Methanopyrales* 目の超好熱性 *Methanopyrus* は低含量のスペルミジン、スペルミンにアグマチンであった。好熱性メタン生成古細菌の中で分岐型ポリアミンが見つかった例は *Methanocaldococcus* と *Methanotorrus* のみで、長直鎖型の存在が確認された例はまだない。メタン生成古細菌の 3 分岐群のポリアミン構成はホモスペルミジンの存否で異なっているため、化学分類マーカーとして有用であろう。

Euryarchaeota 門の高度好塩性古細菌はハロバクテリアと称されていて、古細菌では分子進化系統上は先端に位置する *Halobacteriales* 目に属している。好熱性種は知られておらず、微量のスペルミジン、スペルミン、アグマチンなどを有するのみである。アグマチンは菌体内で合成しているが、スペルミジンやスペルミンは培地からの取り込みと考えられる。高 NaCl/MgCl₂ 濃度下でのみ増殖し、菌体内も高塩濃度であるこれらの菌が、主にイオン結合的に酸性生体成分と結合する塩基性ポリアミンをほとんど有していないのは興味深い。

好熱菌のポリアミン合成系

分子進化系統樹上にポリアミン構成をまとめて図 6 に示した。進化系統樹上で初期に分岐した超好熱性か高度好熱性の真正細菌では、四級分岐型ペンタアミンを主要ポリアミンにしているか、直鎖ペンタアミンや直鎖ヘキサアミンを含有するかであった。詳細は解明されていないが、長直鎖ポリアミンはジアミンからのトリアミンやテトラアミン合成に働く合成酵素により生成されと考えられる(図 1)。トリアミンからの四級分岐ペンタアミン合成やテトラアミンからの四級分岐ヘキサアミン合成に関与するアミノプロピル基 2 個の導入に関わる酵素系に関しては明らかになっていない。三級アミンは四級アミン合成過程の中間体として検出されるものと判断される。

進化系統樹で先端近くに位置する分類群中の高度好熱性真正細菌では、四級分岐ペンタアミンや四級分岐ヘキサアミンと直鎖ペンタアミンや直鎖ヘキサアミンを同時に微量含有している。これらでは、2 つのタイプの異なる長鎖ポリアミン合成系を有していると考えられる。

Crenarchaeota 門の超好熱性と高度好熱性硫黄古細菌は直鎖ペンタアミンを含有している。*Euryarchaeota* 門の *Methanococcales* 目、*Thermococcales* 目、*Archaeoglobales* 目に属する超/高度好熱性古細菌では四級分岐ペンタアミンが主要ポリアミンである。両ポリアミンを有する古細菌は見つかっていない。また、両門の数目では長直鎖ポリアミンや分岐ポリアミンを有しないで、アグマチンとスペルミンに富むポリアミン構成となっている。この強塩基性グアニジノアミンの合成(アルギニンの脱炭酸による)とテトラアミンのスペルミン合成によって好(耐)熱性を保っていると考えられる。好熱性真正細菌と好熱性古細菌の間で遺伝子の種間移動が起こったことも示唆されている。ポリアミン合成系の種間移動もあったものと予想される。

図6 ■ 真正細菌と古細菌の16S リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列に基づく分子進化系統樹*とポリアミン構成

真核生物については、ミトコンドリアとクロロプラストの共生進化を図示した(野崎久義: 遺伝, 58, 75 (2004)). リボソーム RNA 遺伝子による系統樹では真核生物の根もとは古細菌側につき、ATPase 遺伝子などによる系統樹では真正細菌側につく図がつくられているが、古細菌由来の遺伝子か真正細菌由来の遺伝子かによる。超または高度好熱性種が主体の門 (phylum) や目 (order) を太線としたが、その門や目に含まれるすべての種が超/高度好熱性というわけではない。高度好熱性種か中等度好熱性種しか含まれない門や目は細線とし、その門や目の好熱性種のポリアミン構成を示した。L: 長直鎖型ポリアミン (テトラアミン以上) を含有する, B: 分岐型四級アミンを主要ポリアミンとして含有する, L+B: 長直鎖型ポリアミンと分岐型四級アミンを含有する, L+Agm: 長直鎖型ポリアミン (この場合はスペルミン) とアグマチンを含有する。古細菌の3つの目 (*Halobacteriales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales*) には好熱性種が知られておらず、B も L も検出されていない。*(Y. Shen et al.: *Nature*, 410, 77 (2001)) の図をもとに改変)

生命の起源である始原細胞 (コモノートと呼ばれることもある)⁽³⁾ の1つから真正細菌と古細菌が分岐したとすると、進化初期位置にある好熱性真正細菌で2つのポリアミン構成型があり、好熱性古細菌で3つのポリアミン構成型があることが説明しにくい。始原細胞の起源は複数であったとの考えも必要になってくる。

系統進化的に同一分類群 (同一属や同一科とする) 内の真正細菌では、各々の最適増殖温度で培養した好冷菌と中温菌とではポリアミン構成に差は認められない。一方、高度好熱菌を最適温度より低い温度で培養すれば、同一温度で培養した中等度好熱菌と同様なポリアミン構成となる (図5)。同属内で最適増殖温度の差が明らかな場合は、分類指標として利用され、別属として独立させる方向にある。

好熱性始原真核生物の誕生とポリアミン

酵母などの真核生物と種々の細菌類のゲノム解析の比較からは、現在の好熱性古細菌 *Pyrococcus* (*Euryarchaeota* 門) に近い種が現在の真正細菌の γ -プロテオバクテリア (綱) に相当する種へ内部共生し、古細菌に由来する細胞核を有する始原真核生物が誕生したことが示唆されている^(18, 19)。好熱性古細菌 *Ignicoccus* (*Crenarchaeota* 門) に好熱性古細菌 *Nanoarchaeum equitans* (*Nanoarchaeota* 門) が外部共生していることも知られている⁽¹⁶⁾。プロテオバクテリア門には中等度好熱性種も現存し、長直鎖型や分岐型ポリアミンは有しないが、中温性の細菌類にはほとんど含まれないスペルミンを多量に有している。真核生物でのミトコンドリアの起源は現在の α -プロテオバクテリア (綱) の *Rickettsia* に近い種の共生による。また、葉緑体 (色素体) の起源となった

光合成真正細菌であるシアノバクテリア(門)でも中等度好熱菌は現存している。酸性温泉から分離される単細胞光合成真核生物である原始紅藻類の *Cyanidium*, *Cyanidioschyzon*, *Galdieria* は中等度好熱好酸性であり, 中温性の藻類よりノルスペルミンやスペルミンなどのテトラミンが高含量であり, これにより 50~60℃の高温環境に適応しているともいえる⁽²⁰⁾。培養温度の上昇でテトラミン含量は著しく増大する。*Cyanidioschyzon* のゲノム解析により, 好熱性真正細菌や好熱性古細菌とのゲノムの比較検討が期待される⁽²¹⁾。

古細菌の真正細菌への共生による真核生物の誕生も 50~60℃程度の高温環境下で進んだ可能性は否定されない⁽²¹⁾。ミトコンドリアや色素体の欠損, あるいは藻類への藻類の 2 次, 3 次内部共生による多様な原始真核生物の初期進化とポリアミン合成系との関連を探る研究も広がりを見せている^(22, 23)。

謝辞: 本稿で紹介させていただいた筆者らの好熱菌のポリアミン分析研究は, 理化学研究所の伊藤隆博士や城西大学の新津勝博士のご協力による。浜名は, 25 年前, 本誌に「クロマチンタンパク質の分子進化とヌクレオソーム構造の多様性」を執筆した⁽²⁴⁾。その延長線上で原核生物から真核生物の全生物種を対象にポリアミン構成の解析を進め, 再び本誌に執筆する機会を与えられたことに感謝している。

文献

- 1) 大島泰郎: “好熱性細菌”, 東京大学出版会, 1978.
- 2) 大島泰郎: “生命は熱水から始まった”, 東京化学同人, 1995.
- 3) 石川 統, 山岸明彦, 河野重行, 渡辺雄一郎, 大島泰郎: “化学進化・細胞進化”, 岩波書店, 2004.
- 4) 古賀洋介, 亀倉正博: “古細菌の生物学”, 東京大学出版会, 1998.
- 5) M. Ohnuma, Y. Terui, M. Tamakoshi, H. Mitome, M. Niitsu, K. Samejima, E. Kawashima & T. Oshima: *J. Biol. Chem.*, **280**, 30073 (2005).
- 6) 五十嵐一衛, 柏木敬子: 化学と生物, **35**, 442 (1997).
- 7) 高塚由美子, 山口良弘, 神尾好是: 化学と生物, **38**, 818 (2000).
- 8) A. Nakabachi & H. Ishikawa: *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3305 (2000).
- 9) K. Hamana & S. Matsuzaki: *Crit. Rev. Microbiol.*, **18**, 261 (1992).
- 10) 浜名康栄: 日本微生物資源学会誌, **18**, 17 (2002).
- 11) Y. Terui, M. Ohnuma, K. Hiraga, E. Kawashima & T. Oshima: *Biochem. J.*, **388**, 427 (2005).
- 12) K. Hamana, T. Tanaka, R. Hosoya, M. Niitsu & T. Itoh: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **49**, 287 (2003).
- 13) R. Hosoya, K. Hamana, M. Niitsu & T. Itoh: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **50**, 271 (2004).
- 14) 浜名康栄: 群馬保健学紀要, **23**, 149 (2002).
- 15) M. Niitsu, K. Samejima, S. Matsuzaki & K. Hamana: *J. Chromatogr.*, **641**, 115 (1993).
- 16) H. Huber, M. J. Horn, K. O. Stetter & R. Rachel: *Res. Microbiol.*, **154**, 165 (2003).
- 17) C. F. Brunk & E. Nicole: *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 5064 (1998).
- 18) T. Horiike, K. Hamada, S. Kanaya & T. Shinozawa: *Nature Cell Biol.*, **3**, 210 (2001).
- 19) T. Horiike, K. Hamada, D. Miyata & T. Shinozawa: *J. Mol. Evol.*, **59**, 606 (2004).
- 20) K. Hamana, S. Matsuzaki, M. Niitsu, K. Samejima & H. Nagashima: *Phytochemistry*, **29**, 377 (1990).
- 21) 黒岩常祥: 化学と生物, **43**, 825 (2005).
- 22) K. Hamana, T. Aizaki, E. Arai, A. Saito, K. Uchikata & H. Ohnishi: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **50**, 289 (2004).
- 23) K. Hamana, A. Sakamoto, M. Nishina & M. Niitsu: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **50**, 297 (2004).
- 24) 浜名康栄: 化学と生物, **19**, 378 (1981).
- 25) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* (The Society for General Microbiology 編集) の各号の Validation List に掲載されて正式菌名として公式に登録される。
- 26) The NCBI Entrez Taxonomy Homepage (National Center for Biotechnology, National Library of Medicine, National Institutes of Health), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- 27) “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology 2nd Ed.”, Springer, Vol. 1 & Vol. 2, 2001, 2005 (以下続刊).

お知らせ

国際基督教大学 (ICU) 教養学部理学科 学生募集

定員 85 名: (3 年進級時に専修を選択)

専修: 物理, 化学, 生物, 数学, 情報

※オープンキャンパスを 2006 年 6 月 17 日 (土), 8 月 25・26 日 (金・土) に行ないます。奮ってご参加下さい。

入学試験: ICU 特別入学選考 (AO 入試), ICU 大学入試センター試験, 一般入学試験, 社会人特別入学試験の出願締切などについては, 2006 年 6 月初旬発表。

問合せ・連絡先: 〒181-8585 東京都三鷹市大沢 3-10-2

大学 HP: <http://www.icu.ac.jp>

オープンキャンパス問合せ (広報センター): prc@icu.ac.jp

入試問合せ (教務部入学事務グループ): admissions-office

@icu.ac.jp

理学科 HP: <http://science.icu.ac.jp/japanese/index.html>

<ICU 理学科について>

開学 1953 年。

充実した英語教育。

専門科目の講義, 実習の一部は英語で行なわれる。

大学院進学率 66% (2005 年 3 月卒業生, 他大学を含む)

1, 2 年次に短期語学留学可能。

3 年次に単位互換性海外提携大学の希望専門学科への留学可能。