— 論 文 —

高温環境から分離された新規好熱性微生物 *

花田 智[†]・森 浩二[‡]

要 旨

海底熱水系やその類似環境である地下環境や陸上温泉などの高温極限環境中には、未だ分離されていない未知微生物が数多く存在している。我々は高温で還元的な状況にあると考えられるこれら環境から、様々な嫌気的な (または微好気的な) 好熱性微生物の単離に成功した。地下で発見された *Thermanaeromonas toyohensis* は、蟻酸という単純な有機物を唯一のエネルギー・炭素源とし生育出来る細菌であった。また、陸上温泉で発見された *Thermodesulfobium narugense* は、今までに知られていた硫酸還元菌系統のどれにも属さず、新しい系統を代表する硫酸還元細菌であった。さらにまた、海底熱水系で発見された *Oceanithermus desulfurans* と *Archaeoglobus* sp. Arc51 株はともに硫黄還元に関係した微生物であった。これら新規微生物から得られた生物学的情報は高温極限環境の微生物生態系や微生物の進化の解明に有益な知見を与えることとなった。

キーワード：極限環境，海底熱水系，地下環境，温泉，嫌気性微生物

1. はじめに

海底熱水系や地下環境，そして温泉などの高温極限環境は，我々人間から見ると，到底生存可能な環境とは思えない。タンパク質や酵素が変成・失活してしまうほどの高い温度，呼吸のために必須な酸素の欠乏または不在，そしてエネルギー源となる炭水化物などの供給があまり期待出来ない環境は，生物に対して生育を許すほど慈悲深い楽園ではない。しかるに，「このような環境こそ，生命発祥の地である」という考え方が提案されている。生命の発生は今から 38 億年前とも 40

億年以上も前，すなわち，地球の歴史の中で最も古い時代，アーキアンと呼ばれている時代 (25 億年より古い時代) に起きたとされている。この時代には，分子状酸素はほとんど存在せず，大気中や海洋中も極めて嫌気的 (無酸素的) 環境であり，また，火山活動が活発であり，多くの海底火山が広範囲に分布していたと考えられている。本仮説は，このような海底火山から熱水が吹き上がっている高温嫌気環境こそが，生命が生まれた場所であるとしている。熱水に含まれる大量のミネラルや還元物質が，当時の生命の発生を促し，生命活動をサポートしたのであろうという考えである。また，火山性のガスには硫化水素や水素などが含まれている。このような還元的な物質を酸化することでエネルギーを獲得し，また環境中に高濃度に存在している炭酸ガスを固定し有機物を生産し増殖することは，(高温という問題をクリアしさえすれば) 生物にとって十

* 2004 年 10 月 11 日 受 領；2005 年 1 月 8 日 受 理
著作権：日本海洋学会，2005

[†] (独) 産業技術総合研究所生物機能工学研究部門
〒 305-8566 つくば市東 1-1-1 中央第 6 事業所
主著者 e-mail address: s-hanada@aist.go.jp

[‡] (独) 製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部
生物遺伝資源保存部門
〒 292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足 2-5-8

分に可能である。「生命は極限環境で生まれた」という一見、突飛とも思える考え方こそが現在有力なものとなっているのである。

実際、生命が生まれた場所と類似した環境である現在の「極限環境」には、様々な微生物が生育していることが知られている。それらは皆、高温や嫌気という「極限環境」の条件に特化した特徴を持っている。その大半は高温条件下でのみ生育することが出来るが、常温 (25 °C 程度) では増殖することが出来ないし、また酸素に対し耐性を持たない、つまり酸素が存在すると死んでしまうような微生物も多い。これら極限微生物は、極限環境に適応する過程で、そのような特殊能力を獲得したのだという解釈がある一方で、古来の性質を受け継いできた (つまり、古代の祖先の性質をそのまま反映している) のだという解釈が出来る。現代の極限環境が古代における生命発祥の現場環境の模倣であるとするなら、これら極限微生物は初めて現れた生命である「始源生物」の特徴を (部分的であるにせよ) 継承している可能性も大きいと言えるだろう。

海底熱水系のような古地球類似環境を多面的に調査するために、平成 12 年度から開始された文部科学省振興調整費研究課題「海底熱水系における生物・地質相互作用の解明に関する国際共同研究 (通称、アーキアン・パーク計画)」(Urabe *et al.*, 2001) では、対象とする極限環境に棲む未知微生物の探索ということも目的のひとつとなっている。このような環境中に潜む未知微生物は、生命の起源やその初期進化という壮大なパズルを解く上での重要なピースに成り得るからである。現在までに、様々な極限微生物が同様の環境から多数分離されてきてはいる。しかし、未発見の微生物が極限環境中に取り残されていることは疑うべくもない。

アーキアン・パーク計画の中で研究対象とされた海底熱水系 (伊豆小笠原沖、水曜海山) を始め、その類似環境である地下環境 (北海道札幌市、豊羽鉱山) や陸上温泉 (宮城県、鳴子温泉) などの高温極限環境から、我々はいくつかの新規未知微生物の分離に成功し、その性状や系統進化的性質を明らかにすることが出来た。本稿では、我々が発見した新規極限微生物について、それら特殊な性質と発見の意義について論じたい。

2. 地下環境に潜んでいた新規嫌気性好熱性細菌

アーキアン・パーク計画のメインプロジェクトである海底熱水系の掘削に先立って、モデル環境として地下での掘削試験が行われた (平成 12 年度)。掘削は北海道札幌市の豊羽鉱山内、地下 550 m の地点で行なわれた。本試験は、現位置に生息する絶対嫌気性細菌の分離培養の際に問題とならぬように、採取岩石サンプルを現場で迅速に嫌氣的に処理するシステム (脱酸素剤およびガス浸透性の低いナイロンバックを用いた嫌気保存) の構築を目的のひとつとしたものであった。採取された岩石コアからの嫌気微生物の培養を試みたが、掘削水の混入などの厄介な問題があり、残念ながら新規微生物は検出されなかった。しかし、本鉱山は火山活動の盛んな地域に位置していることから、地下 500~600 m の岩盤から熱水流出が見られており、その熱水を分離源として嫌気性微生物の培養を行なったところ、新規細菌の生育が確認された。分離源である熱水の温度は 71 °C、流出速度は毎分 2 L という勢いであった。この培養から、更なる純化作業を経て、新規好熱性嫌気微生物 (strain ToBE) の純粋分離に成功した。形態学的、生理学的、遺伝学的研究から得られた結果に基づき、本単離微生物を新属新種、*Thermanaeromonas toyohensis* gen. nov., sp. nov. として提案した (Mori *et al.*, 2002)。

この新規細菌 *T. toyohensis* は、低 GC (グアニン+シトシン) 含量グラム陽性細菌のグループ (*Firmicutes* 門) に属する絶対嫌気性の (すなわち酸素存在下で生育することが出来ない) 細菌である。生育温度帯は 55~73 °C、70 °C で最も良好な生育を示すことから好熱性細菌であると言える。細胞形態 (Fig. 1a) は、直径 0.6 μm、長さ 2~6 μm の桿菌である。細胞内に孢子を形成する (Fig. 1b) ことから、生育温度限界である 73 °C を超えても生残出来る能力を持つことが示唆される。嫌気条件下での本細菌の生育はチオ硫酸を用いた嫌気呼吸である。硫酸や亜硫酸、元素硫黄を呼吸電子受容体として用いることは出来ないが、硝酸や亜硝酸をチオ硫酸の代わりに嫌気呼吸に用いることが出来る。

系統分類学的解析は、本細菌に近縁な属は *Ther-*

Fig. 1. A phase-contrast micrograph of *Thermanaeromonas toyohensis* (a), and its transmission electron micrograph showing formation of an end-spore (b).

moanaerobacter 属, *Ammonifex* 属, そして *Carboxydibrachium* 属である事を示した。*Thermanaerobacter* 属において化学独立栄養的生育(無機物のみを炭素源・エネルギー源とする生育)の報告例はないが, その他の2属は有機物が存在しなくても生育可能である。*Ammonifex* 属は水素と炭酸ガスがあれば生育可能であり (Huber *et al.*, 1996), また *Carboxydibrachium* 属は一酸化炭素を酸化することで生きることが出来る (Sokolova *et al.*, 2001)。本新細菌 *T. toyohensis* は, 上記2属のような化学独立栄養での生育能を欠いている。有機物の供給がまるで期待出来ない地下の岩盤中で, このような細菌は生育可能なのであろうか? その答えは, この細菌が蟻酸を唯一の炭素源・エネルギー源として良好な生育を示せることにある。蟻酸は有機酸(低級脂肪酸)の中でも最も単純な構造を持つものであり, 高温の地下環境においては非生物学的に容易に生成され得る事が知られている。実際, 鉱物脈中に多量の蟻酸が含まれている事例が報告されている (Zeng and Liu, 2000)。*T. toyohensis* は化学独立栄養細菌ではないが, 非生物学的に作られる蟻酸を基質とし生育出来ることから, 地下岩盤中では“化学独立栄養的生育”を行うことが出来るのである。本細菌が分離された岩盤からの滲出熱水の分子遺伝学的調査から, この地下熱水中には水素をエネルギー源とする独立栄養細菌だけではなく, 従属栄養細菌が多種類検出されている (Nakagawa *et al.*, 2002)。本細菌は基本的に従属栄養細菌ではあるが, 蟻酸が不断に供給される地下岩盤中では“独立栄養細菌”として, これら従属栄養細菌に有機物を供給する役割

を演じている可能性が高いと考えられる。

3. いかなる硫酸還元細菌グループにも属さない新規好熱性硫酸還元細菌

海底熱水系類似環境である陸上温泉を対象とした未知嫌気微生物の探索も, アーキアン・パーク計画の一環として行なってきた。その過程で得られた新細菌が新属新種として提案された *Thermodesulfobium narugense* である (Mori *et al.*, 2003)。本細菌は宮城県鳴子温泉にある酸性湖, 湯沼に流入する温泉水中に発達した特殊なバクテリアマット(微生物被膜)から分離された。このバクテリアマットの表面は白い房状の形状をしており, 温度 58 °C 付近で発達していた (Fig. 2a)。この温泉水の流入している湖は酸性を呈していたが, バクテリアマット形成付近の pH は 6.9 とほぼ中性の値を示した。この特殊なバクテリアマットの白い房状の部分は *Thiomonas thermosulfatus* という *Proteobacteria* 門の *Beta-Proteobacteria* に分類される好熱性硫黄酸化細菌により主に構成されていることが明らかになった。さらに興味深いことは, この白色房状マットの下層が黒色の密なマットとなっていることであつた。この黒変は硫化鉄の形成と沈殿によるものであり, そこで多量の硫化水素が発生していることを示唆している。つまり, この黒色マット中には好熱性硫酸還元菌の存在が示唆される。この事実を受けて, 黒色マットを分離源とした硫酸還元菌の分離培養を行なった結果, 得られたものが新規細菌 *T. narugense* であつたのである。

Fig. 2. (a) White tufty microbial mats observed in Narugo hot spring (58 °C, pH 6.9). (b) A transmission electron micrograph of *Thermodesulfobium narugense* isolated from the microbial mats in Narugo hot spring.

T. narugense は 50~55 °C で良好な生育を示す好熱性細菌であり、硫酸やチオ硫酸を電子受容体として生育する絶対嫌気性細菌である。硫酸塩が存在しない場合でも、硝酸や亜硝酸があれば、それを受容体として生育可能である。電子供与体として水素を用いた場合の生育が最も良く、脂肪酸や糖、アルコールなどの有機酸の利用能を欠いている(蟻酸だけは利用可能であるが、その生育は水素の場合に比べ明らかに劣る)ことから、本細菌は偏性の化学独立栄養細菌であると考えて、ほぼ差し支えないと思われる。細胞の直径は 0.5 μm 、長さは 2~4 μm と細長い桿菌である (Fig. 2b)。胞子の形成は観察されていない。

本細菌の特筆すべき性質のひとつとして、生育 pH 帯が 4.0~6.5 と酸性側に大きく偏っているということが挙げられる。硫酸還元細菌は中性付近に至適生育 pH を持つものがほとんどであり、本菌のように酸性条件にシフトしている例は希である。これは自然環境中で *T. narugense* が硫黄酸化細菌と密に共存していることに関係すると考えている。この硫酸還元菌は温泉流水に含まれている硫酸イオンだけではなく、近接している硫黄酸化細菌の最終産物である硫酸をも用いて生育している可能性が大きい。故に、本細菌は共生に近い形で硫黄酸化細菌とともにバクテリアルマットを形成しているのであろう。しかし、このような共存は硫黄酸化細菌による pH の低下(硫酸還元速度に比べ、硫酸生成速度が速いために起こる)に耐性を持つことなしには達成され得ない。*T. narugense* は、酸性条件下での生育能を獲得したことにより、硫黄酸化細菌との密接な共存が可能となり、そして生育に必須な硫酸の恒常的供給を享受出来るようになったのであろう。

硫酸還元能は細菌(バクテリア)の中で以下の4つの系統門に散在していることが知られていた: *Thermodesulfobacteria* 門 (*Thermodesulfobacterium* 属), *Nitrospira* 門 (*Thermodesulfovibrio* 属), *Firmicutes* 門 (*Desulfotomaculum* 属など), そして *Proteobacteria* 門 (*Delta-Proteobacteria: Desulfovibrio* 属など) である。16S rDNA 配列に基づく系統解析は、本細菌がこれら4グループのいずれにも属しておらず、独立した系統に位置する事を示した。この系統的孤立性と生理学的・生化学的な比較から、本細菌を標準種に据えた高次分類

階級, *Thermodesulfobiaceae* 科を提案し (Mori *et al.*, 2003), 受理された (Euzéby, 2004)。この細菌の発見により、それまで細菌の中では4つのグループにしか存在していないと思われていた硫酸還元能が、それ以外のものにも存在することが明らかとなり、硫酸呼吸という嫌気環境における効率的エネルギー獲得様式がより広範囲に見られる形質であることが示されたのである。

新たに発見された新系統に属する硫酸還元菌は、まだ明らかとなっていない硫酸還元機能の進化過程を解明する上でも、重要な細菌のひとつとして位置づけられるだろう。硫酸還元に関わる遺伝子の一部は、時間軸に沿った単純な進化経路を通らず、平行伝搬という特殊な方法で「門やドメイン」という最高次分類群の垣根を越えて受け渡されている可能性が示唆されてきている (Klein *et al.*, 2001; Friedrich, 2002)。我々の発見した *T. narugense* においてもこれら遺伝子の配列決定はすでに終了済みである (Mori *et al.*, 2003) が、得られた配列データを詳細に解析することで、アーキアン時代に獲得されて複雑な経路を辿り現在に至ったとされる硫酸還元機能の進化過程について重要な知見を与え得るものと信じている。

4. 海底熱水系での硫黄循環に関与する新規微好気性/嫌気性好熱性細菌

伊豆小笠原沖、水曜海山の熱水系調査で、はくよう2000により採取されたチムニー片を分離源とした培養で新規好熱性細菌が発見された。分離培養は嫌気条件下で行ない、培地には有機物と電子受容体としての硫黄が加えられた。硫黄添加の理由については、以下の通りである。他の海底熱水系同様、本地点で噴出する熱水にも多量の硫化水素が含まれている。海底面は比較的溶存酸素に富んでいるため、嫌気的環境から噴出してきた硫化水素は海底地下-海底面境界(嫌気-好気境界面)で急速に自己酸化を起こし、元素硫黄となる。また、この反応の過程で境界面では酸素が消費され、酸素欠乏が引き起こされる。つまり熱水噴出孔(チムニー)の一部の領域では、低酸素・高硫黄という環境が形成されているのである。このような環境では酸素を電子受容体とする硫黄酸化微生物は増殖が抑えられてしま

う。また、チムニー周辺にはある程度のバイオマスがあり、さらに有機物が豊富であった場合でも、酸素が制限されているため化学従属栄養微生物の増殖も同様に抑えられるであろう。このような低酸素・高硫黄環境において優占出来るのは、酸素の代わりに硫黄を電子受容体として用いることの出来る嫌気性細菌であろう。

この分離培養で純粋分離された細菌は、嫌気条件・有機物存在下で硫黄を電子受容体とし生育するものであった。また、電子受容体として硝酸や亜硝酸も用いることが出来、電子受容体に関しレンジの広い嫌気呼吸能力を有することが明らかとなった。そればかりではなく、この新規細菌は酸素呼吸でも生育可能であった。ただし、大気中と同等の20%酸素では生きていくことが出来ず、5%よりも低い酸素濃度条件下でしか生育を示さなかった。このような低酸素分圧でのみ生育を示す細菌を微好気性細菌と呼ぶが、無酸素条件下でも生育し得る本細菌の場合は微好気性および通性嫌気性細菌と呼ぶことが妥当であろう。16S rDNA 配列比較により、本細菌は好熱性細菌のみで構成される *Thermaceae* 科 (*Thermus* 属, *Meiothermus* 属, そして *Marinithermus* 属を含む) に属することが分かった。この *Thermaceae* 科の中での最近縁種は *Oceanithermus profundus* (Miroshnichenko *et al.*, 2003) であったが、細胞膜構成脂肪酸組成, ゲノム GC 含量, 生育至適 pH, 亜硝酸利用能, 基質資化性試験に明確な差違があり, 加えて DNA-DNA ハイブリダイゼーション試験でゲノム自体の相同性が極めて低かったために, 同属新種, *Oceanithermus desulfurans* と命名し, 提案受理された (Mori *et al.*, 2004)。

O. desulfurans は直径 $0.5\ \mu\text{m}$, 長さ $1.5\sim 2\ \mu\text{m}$ の桿菌 (Fig. 3a) で, $60\ ^\circ\text{C}$ の至適温度を持つ好熱性細菌である。至適条件で生育した細胞は “rotund bodies” と呼ばれるネックレス状に細胞が連鎖する特徴的な形態を示す (Fig. 3b)。本細菌の性質を述べる上で最も強調されるべきことは、嫌気条件下での硫黄の還元能であろう。これは *Thermaceae* 科に属する細菌の硫黄還元についての初めての報告であった。先に受理された最近縁種である *O. profundus* においても、硫黄還元能については言及されていなかったが、*O. desulfurans* の記載論文をまとめるにあたり、*O. profundus* の硫黄利用について試験してみたところ、我々のものと同等の硫黄還元

Fig. 3. A transmission electron micrograph of *Oceanithermus desulfurans* (a). A phase-contrast micrograph of the organism showing a chain-link circular structure (b).

能を持つことが明らかとなった。このことは硫黄還元能が本細菌に限定された性質ではなく、*Oceanithermus* 属に見られる特徴であることを示している。今まで硫黄循環には積極的に関わることはないと考えられていた *Thermaceae* 科であるが、それに属する海底熱水系特有の *Oceanithermus* 属で硫黄還元能が見付けられたことにより、熱水系の硫黄循環を考える際に従来の硫黄酸化・硫黄還元微生物と同様に、これら好熱性細菌群も無視出来ない存在となったのである。

5. 海底熱水系で発見された新規チオ硫酸還元古細菌

ここまで論じてきた提案済みの新規微生物すべては、Domain *Bacteria* (細菌 [バクテリア] と呼ばれている分類群：かつて、真正細菌と呼ばれていた分類群) という大分類群に属するものであった。しかし、原核生物には Domain *Bacteria* だけではなく、もう一つのドメイン Domain *Archaea* (古細菌と呼ばれている分類群) が存在している。好熱、または高温耐性という観点から見ると、細菌より、こちらの古細菌の方がより高い適応性を示しているようである。古細菌の中には沸騰に近いような、またはそれを超える温度でも生育出来る菌が数多く含まれているし、また $121\ ^\circ\text{C}$ といういかなる細菌も完全に死滅してしまう温度で生残し得るもの

さえ存在している (Stetter, 1995; Kashefi and Lovley, 2003)。

我々は、細菌ばかりではなく、この古細菌に属する新規好熱性菌の分離にも成功している。この好熱性菌は水曜海山海底熱水域で平成 14 年度に行われた掘削で得られた岩石コアサンプルを分離源とした分離培養により得られたものである。本菌は至適生育温度 70 °C, 60~75 °C の範囲で生育を示す好熱性菌で、形態は直径 0.5~1.0 μm 程度の不定形球菌 (Fig. 4a) であった。16S rDNA 配列に基づく系統解析から、本菌は *Euryarchaeota* 門の *Archaeoglobaceae* 科に属することが示された (Fig. 4b)。最近縁属は *Archaeoglobus* 属 (最近縁種は *Archaeoglobus veneficus*) で、この属の新種とするのが妥当であると考えて、*Archaeoglobus* sp. Arc51 株と名付けた (本菌については現在投稿準備中であり、正式な種名の命名はなされていない)。*Archaeoglobus* 属は硫酸塩還元により生育する古細菌のグループであり、Arc51 株もチオ硫酸を還元して生育する絶対嫌気性菌である。ただし、硫酸や元素硫黄の還元で生育することはないが、亜硫酸を電子受容体としての生育は可能なようである。

Fig. 4. A phase-contrast micrograph of *Archaeoglobus* sp. strain Arc51 (a), and its phylogenetic position as suggested by 16S ribosomal sequence comparison (b). A bar beside the phylogenetic tree indicates 3 substitutions per 100 compared nucleotides.

Arc51 株は基本的に水素を電子供与体として成育するが、その生育には微量の酢酸をも要求する。これは

エネルギー源 (電子供与体) として水素を用いて独立栄養的に生育し得るのだが、炭素源として二酸化炭素だけではなく酢酸が必要とされる (炭酸固定能が弱い?) ことを示しているものと予想している。熱水域において Arc51 株に酢酸を供給しているのは生物学的な作用に因るものなのだろうか? それともこのような低級脂肪酸は高温高压環境で無生物的に生じたものなのだろうか? 解明が待たれる興味深い問題である。

海底熱水系では地下から不断に供給される還元硫黄が様々な化学独立栄養細菌の栄養源となり、結果としてそこに大きなバイオマスが形成されることとなる。また、熱水は還元的物質を多く含んでいるため、周辺を嫌氣的雰囲気に変える作用も持っており、このような中では、微生物により酸化された硫黄化合物 (好気条件下では無生物的にも酸化され得るが) が、嫌気性生物により再度還元されるという生物学的硫黄循環が生じている。この熱水域の微生物相を明らかにするために、分子生物学的手法を用いた解析が同一プロジェクトの研究者により進められている (Hara *et al.*, 2002; Higashi *et al.*, 2004)。環境 16S rDNA をターゲットとしたこれらの研究から、この熱水域での硫黄循環 (硫黄の酸化と還元) に関係する微生物の構成が明らかになりつつある。そして、硫黄循環の還元側に携わっている微生物メンバーには *Thermodesulfobacterium* 属や *Delta-Proteobacteria* に属する硫酸塩還元細菌などのバクテリアだけではなく、硫酸塩還元古細菌である *Archaeoglobus* 属も明らかに含まれる。つまり、海底熱水系の生物学的硫黄循環を考える際には、当然、Arc51 株のような硫酸塩還元古細菌の貢献も十分に考慮されなければならないのである。

6. 新規未知細菌の発見とその意義

ここまで述べてきたように、我々は高温極限環境からの未知微生物の分離培養に成功してきた。しかし、これほどまでに多数の極限微生物が分離されてきているのに、何故、更なる未知微生物の探索が必要なのだろうか? その答えは、「環境中の微生物生態系がほとんど未知の細菌で構成されている」からに他ならない。分子生物学的手法を用いた解析から、高温極限環境に

多数の未分離の微生物が存在していることが具体的に示されてきている。そして、極限環境生態系という比較的単純な構造の微生物群集であったとしても、そのうちのほんのわずかな微生物しか分離培養に成功していないのだということを明らかにしてきた。しかし、このような培養を伴わない手法が教えてくれるのは、未知微生物が存在するという事実と、それらの系統分類的位置のみである。我々はその分子系統情報から、未知微生物の生理学的性質や生態系での役割などを想像たくましく推論するしかない。これに対し、分離培養という手法は微生物群集の全体像把握には適していない反面、ひとたび未知微生物の分離培養に成功したら、その微生物の系統分類学的情報のみならず、生理学的・生化学的・形態学的データを同時に獲得出来るという利点がある。

我々が発見した微生物は、それぞれに興味深い特徴を持っており、それから得られた情報が高温極限環境の微生物生態系やその中で物質のやり取り、そして微生物機能の進化などを解釈しようとする際の有益な知見となったり、また視点を広げるのに役立つものとなっている。地下で発見された *Thermanaeromonas toyohensis* は厳密には従属栄養細菌であるが、蟻酸という極限環境中では無生物的に生成される単純な有機物を唯一のエネルギー・炭素源とし生育出来ることから、そのような環境中では「独立栄養的」な生き方をしている可能性が示めされた。これが正しいとすると、従来の「熱水環境中の微生物生態系では硫黄や水素を酸化する化学独立栄養細菌のみが一次生産者となれる」という考え方を修正しなければならない。つまり、蟻酸など単純な有機物を基質として良好な生育を示す微生物は、その環境中では一次生産者のひとつとして考えなければならないのかも知れない。また、陸上温泉で発見された *Thermodesulfobium narugense* は系統解析の結果、今までに知られていた硫酸還元菌系統のどれにも属さず、新しい硫酸還元系統（細菌において5番目の系統）を代表する硫酸還元菌であることが明らかとなった。これは硫酸呼吸という獲得様式がより広範囲に見られる形質であることを示した。また、本細菌の硫酸呼吸に関係した遺伝子の解析を進めることは、未だ明らかにされていない硫酸還元機構の進化の解明に対

して有用な情報となるであろう。海底熱水系で発見された *Oceanithermus desulfurans* と *Archaeoglobus* sp. Arc51 株は、ともに硫黄還元に関係した微生物であった。海底熱水系においては硫黄化合物が極めて重要な役割を果たしている。還元硫黄は電子供与体、すなわち我々にとっての「ご飯」の役割となり、そして酸化硫黄化合物は電子受容体、我々で言えば「酸素」の役割にあたる。生物学的硫黄循環は海底熱水系の微生物相互作用を考える上で大切なファクターであり、我々の発見したこれら硫黄（またはチオ硫酸）還元菌は、この物質循環を考える上で、決して無視出来ない微生物のひとつと考えている。

References

- Euzeby, J. (2004): Validation List no. 95. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **54**, 1–2.
- Friedrich, M. W. (2002): Phylogenetic analysis reveals multiple lateral transfers of adenosine-5'-phosphosulfate reductase genes among sulfate-reducing microorganisms. *J. Bacteriol.*, **184**, 278–289.
- Hara, K., T. Kakegawa, A. Maruyama, J. Ishibashi, K. Marumo, T. Urabe, and A. Yamagishi (2002). Sub-seafloor Archaeal community at Suiyo Seamount on the Izu-Ogasawara Arc. AGU Fall Meeting, California, Eos, Transactions, American Geophysical Union.
- Higashi, Y., M. Sunamura, K. Kitamura, K. Nakamura, Y. Kurusu, J. Ishibashi, T. Urabe, and A. Maruyama (2004): Microbial diversity in hydrothermal surface to subsurface environments of Suiyo Seamount, Izu-Bonin Arc, using a catheter-type in situ growth chamber. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **47**, 327–336.
- Huber, R., P. Rossnagel, C. R. Woese, R. Rachel, T. A. Langworthy, and K. O. Stetter (1996): Formation of ammonium from nitrate during chemolithoautotrophic growth of the extremely thermophilic bacterium *Ammonifex degensii* gen nov sp nov. *Syst. Appl. Microbiol.*, **19**, 40–49.
- Kashefi, K. and D. R. Lovley (2003): Extending the Upper Temperature Limit for Life. *Science*, **310**, 934
- Klein, M., M. Friedrich, A. J. Roger, P. Hugenholtz, S. Fishbain, H. Abicht, L. L. Blackall, D. A. Stahl, and M. Wagner (2001): Multiple lateral transfers of dissimilatory sulfite reductase genes between major lineages of sulfate-reducing prokaryotes. *J. Bacteriol.*, **183**, 6,028–6,035.

- Miroshnichenko, M. L., S. L'Haridon, C. Jeanthon, A. N. Antipov, N. A. Kostrikina, B. J. Tindall, P. Schumann, S. Spring, E. Stackebrandt, and E. A. Bonch-Osmolovskaya (2003): *Oceanithermus profundus* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, microaerophilic, facultatively chemolithoheterotrophic bacterium from a deep-sea hydrothermal vent. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **53**, 747–52.
- Mori, K., S. Hanada, A. Maruyama, and K. Marumo (2002): *Thermanaeromonas toyohensis* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic anaerobe isolated from a subterranean vein in Toyoha Mines. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **52**, 1,675–1,680.
- Mori, K., T. Kakegawa, Y. Higashi, K. Nakamura, A. Maruyama, and S. Hanada (2004): *Oceanithermus desulfurans* sp. nov., a novel thermophilic sulfur-reducing bacterium isolated from a sulfide chimney in Suiyo Seamount. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **54**, 1,561–1,566.
- Mori, K., H. Kim, T. Kakegawa, and S. Hanada (2003): A novel lineage of sulfate-reducing microorganisms: *Thermodesulfobiaceae* fam. nov., *Thermodesulfobium narugense*, gen. nov., sp. nov., a new thermophilic isolate from a hot spring. *Extremophiles*, **7**, 283–290.
- Nakagawa, T., S. Hanada, A. Maruyama, K. Marumo, T. Urabe, and M. Fukui (2002): Distribution and diversity of thermophilic sulfate-reducing bacteria within a Cu-Pb-Zn mine (Toyoha, Japan). *FEMS Microbiol. Ecol.*, **41**, 199–209.
- Sokolova, T. G., J. M. Gonzalez, N. A. Kostrikina, N. A. Chernyh, T. P. Tourova, C. Kato, E. A. Bonch-Osmolovskaya, and F. T. Robb (2001): *Carboxydo-brachium pacificum* gen. nov., sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, CO-utilizing marine bacterium from Okinawa Trough. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **51**, 141–149.
- Stetter, K. O. (1995): Microbial life in hyperthermal environments: microorganisms from exotic environments continue to provide surprises about life's extremities. *ASM News*, **61**, 285–290.
- Urabe, T., A. Maruyama, K. Marumo, K. Seama, and J. Ishibashi (2001): The Archaeal Park project update. *Inter Ridge-Crest Res.*, **10**, 23–25.
- Zeng, Y. and J. Liu (2000): Short-chain carboxylates in fluid inclusions in minerals. *Appl. Geochem.*, **15**, 13–25.

New Thermophilic Microorganisms Isolated From Extreme Environments

Satoshi Hanada[†], Koji Mori[‡]

Abstract

Quite a few microorganisms have been discovered in extreme environments such as hydrothermal vents, hot springs and deep subsurface environments, but a large number of extremophiles in these environments have still remained uncultured. We are searching for those unknown organisms hidden in extreme environments. In our attempts, we have successfully isolated several new extremophiles. One of the isolates, *Thermanaeromonas toyohensis*, is a spore-forming strictly anaerobic bacterium growing at 70 °C in subsurface environments. Its most unique property is that it can use formate, the simplest organic acid, as a sole energy and carbon source in the presence of a suitable electron sink. Formate can be synthesized abiotically in thermal subsurface environments. The ability to use formate is advantageous for living in those subsurface environments that lack more complex organic compounds. Another isolate, *Thermodesulfobium narugense*, is a thermophilic sulfate-reducing bacterium isolated from a Japanese hot spring (Narugo hot spring in Miyagi). The bacterium is not phylogenetically related to any known sulfate-reducers, and we have proposed a new family, Thermodesulfobiaceae, for the isolate. This isolate occupies an interesting and important phylogenetic position in considering an evolutionary pathway of sulfate-reduction that has remained mysterious. The other isolate, *Oceanithermus desulfurans*, was found in a deep-sea hydrothermal vent. The new isolate is a thermophilic short rod which grows well under micro-aerobic conditions (less than 5% oxygen tension). It can also grow by reducing sulfur under anaerobic conditions. Generally, *Thermus* relatives do not use sulfur as an electron acceptor. This is the first report on sulfur-reduction by a *Thermus*-related species. We also succeeded in isolating a new thiosulfate-reducing archaeon from a hydrothermal vent. The phylogenetic analysis indicated that the isolate belongs to the genus *Archaeoglobus*, and should be classified as a new species in the genus. The new archaeon may play a significant role in the deep-sea sulfur cycle with other thermophilic sulfur reducers and oxidizers.

Key words: extreme environments, hydrothermal vents, subsurface environments, hot springs, anaerobes, extremophilic microbes

(Corresponding author's e-mail address: s-hanada@aist.go.jp)

(Received 11 October 2004; accepted 8 January 2005)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2005)

[†] Institute for Biological Resources and Functions, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba 305-8566, Japan

[‡] Biological Resource Center, National Institute of Technology and Evaluation (NITE), 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu, Chiba 292-0818, Japan