

深度地下極限環境生物の探索と利用

特集 プロジェクト研究

高木昌宏*

Screening and Application of Organisms from Extreme-environments of Deep Underground

Key Words : Deep underground, Hyperthermophile, Biomaterial,
Environmental Biotechnology

【はじめに】

日本は、21世紀における「科学技術創造立国」を目指して、明日の科学技術につながる知的財産の形成を図ろうとしています。特に我国のように、国土が狭く、天然資源に乏しい状況では、科学技術の振興は一層重要であると言えます。戦略的基礎研究推進事業は、国(科学技術庁)が科学技術政策に基づいた戦略目標を決定し、科学技術振興事業団が推進すべき研究領域について提案を公募し、年間平均、3000万円から2億円程度の研究費を、研究グループに助成する大型プロジェクトです。

この誌面をお借りして、平成9年度発足の「深度地下極限環境生物の探索と利用」(研究代表者 今中忠行 京都大学大学院工学研究科・教授)の概要について説明させて頂きたい。

【研究の背景とこれまでの成果】

地球46億年の歴史において生物が地球上に出現したのは今から約35億年前と推定されている。その間、様々な環境変化に伴って生物は進化適応すると同時にその種は多様化してきた。例えば微生物を例として挙げると、100℃以上の高温で生育する超好熱菌、塩分濃度が25%で生育する好塩菌、pH 1

で生育する好酸菌など到底生物が存在しえないと信じられていた極限環境を好む微生物が、近年次々と発見されている。

極限環境生物学は、地道な探索(スクリーニング)と、最新の遺伝子工学及びタンパク質工学が影響を及ぼしあう古くて新しい研究分野であり、近年における、試験管内遺伝子増幅技術(ポリメラーゼ連鎖反応:PCR)の開発例でも、好熱菌の耐熱酵素が用いられている。この様に極限生物学は、学問的にも、応用面でも益々注目されつつある分野で、世界中で活発に研究が行われている。我々は、1980年頃より、中等度好熱菌である *Bacillus stearothermophilus* の遺伝子や蛋白質等に興味を抱き研究を進めてきた。好熱菌遺伝子操作系の構築、蛋白質の人為的熱安定化等のタンパク質工学、さらには耐熱酵素の産業への応用など、様々な興味深い研究成果を出すことができた。さらに我々は、1992年に鹿児島県小宝島の硫気坑より100℃で生育する超好熱菌(*Pyrococcus kodakaraensis* KOD1株)を取得し、その染色体物理地図を作製した後、50種類以上の酵素遺伝子を解析しそのいずれの遺伝子産物も超耐熱性であると同時に、原始生命体に近い性質を保持している事も明らかにし、超好熱菌は生命の起源を探る上でも非常に興味深い研究対象であると考えている。

一方、無酸素条件(嫌気条件)下で炭化水素を分解利用できる極めて興味深い細菌(HD-1株)を静岡県相良油田から分離することにも成功している。石油主成分のひとつである脂肪族炭化水素(アルカン)をHD-1株無細胞抽出液を用いて嫌氣的に分解させたところ分解産物として炭素鎖長の短くなったアルケンが検出できたことから、このHD-1株は酸素を使わないで水素を奪う酸化方法を使っていることが明らかになった。

*Masahiro TAKAGI
1959年8月14日生
1984年大阪大学大学院工学研究科醸
酵工学専攻(修士)修了
現在、大阪大学大学院・工学研究科・
応用生物学専攻・細胞生理学研究
室、助教授、工学博士、バイオテク
ノロジー
TEL 06-6879-7442
FAX 06-6879-7441
E-Mail m.takagi@cell.bio.eng.
osaka-u.ac.jp



16SrRNA 配列に基づく系統解析を行った結果、本菌は独立栄養細菌グループの新属新種であることが明らかとなった。さらに、石油がなくともHD-1株は、光エネルギーを使わずにCO₂を単一炭素源として生育し、HD-1細胞から調整した疎水性画分の中には膜脂質以外にさらに極性の低い物質が含まれていることが示唆され、それが原油の組成と類似していることが分かった。本菌は嫌気条件下で最酸化型の炭素化合物であるCO₂と最還元型の炭化水素との間の変換を行っており、新しい炭素物質循環系の存在を示唆していると考えられた。

【本研究課題の目的】

超好熱菌 *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1株は、地下熱水床から吹き出してきた微生物であり、嫌氣的石油代謝細菌HD-1株は、数十メートルの配管を伝って地下からあふれ出る油井付近の土壌から分離されている。従って、両微生物は、いずれも本来は地下の深い部分に生育していると考えられる。しかしながら、深度の地下環境は長く無菌状態であると考えられ、微生物資源の探索場所としてはあまり注目されることはなかった。本研究課題の特徴は、地球環境において最も研究が遅れている深度地下微生物の新しい特性を明かにすることにある(図1)。

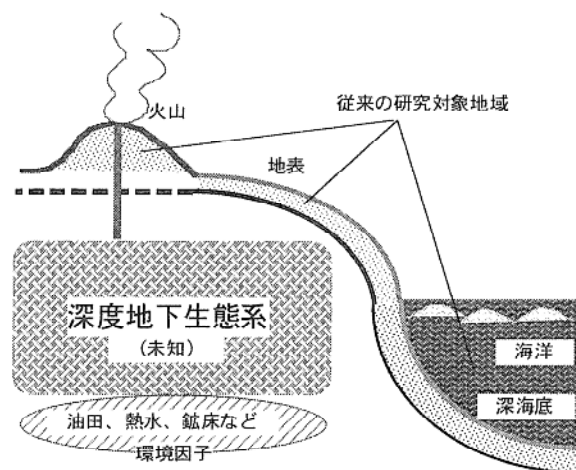


図 研究の概念図

一言で地下と言ってもその環境は多様である。海底の地殻では1km深くなるにつれて15℃ずつ温度が高くなり、陸地の地殻では、1km深くなると、25℃温度が上がる。現存する微生物で最も高い温度で生育するものは、110℃である事を考慮に入れ

ると、海底では地下7km、陸上でも地下5kmの範囲にまで微生物が生息している可能性がある。さらに、地下には熱水、原油、鉱物等をふくむ層が存在し、それぞれの環境に適応して生育する超好熱菌や石油分解菌、そしてそれら以外にも未知の代謝能力を秘めた新規微生物が必ず存在しているであろう。新規独立栄養微生物が存在すれば、その生物の生産する有機化合物を利用して生育する従属栄養生物の存在も考えられ、微生物による物質循環系を基本とした未知の生態系が存在するであろう。つまり、深度地下は新規生物資源の最後の宝庫となっているはずである。深度地下における微生物生態に新しい光を当てて地球生態系の理解をより一層深めることを本研究の中心課題とし、そしてさらに新規微生物の特殊な能力(例えば、有用酵素生産、抗生物質生産、石油等難分解物質分解能力など)を応用した、工業利用、環境浄化に関わる新しい技術や産業の育成に貢献する事を将来的な目標としている。

【研究計画の具体案】

(1) 深度地下サンプル採取方法の開発

日本は天然資源に乏しい国であるために、地下ボーリング技術は世界的に見ても高いレベルにある。しかも、地表のみならず海底油田の探索など、海底の地下のボーリング技術にも優れている。地下の探索には、掘削槽から回転する鋼鉄製のパイプ(先端にダイヤモンドの刃が付けられている)を埋め込み、引き上げた際に中からの円筒状のコアサンプルを採取する。しかしこれらの方法は、生物サンプルではなく天然資源や温泉源の探索用に開発された技術であり、このパイプから取得した地下水はもちろん岩石にも、地表付近の微生物が混入する可能性がある。ここでは、深度地下サンプルを地表物質の混入することなく取得する方法を考えたい。具体的には、掘削オイルがサンプルとできるだけ接するこのない形状で、しかも掘削オイルに目印となる色素等のトレーサーを含ませ、岩石サンプルのうちオイルで汚染された部分を容易に判定できるサンプリング技術を開発したい。開発した方法を用いて、油井、鉱床、温泉源等の探索現場からのサンプリングを採取する。採取したサンプルについて、直ちに嫌気状態のグローブボックス内で、微生物分離の操作を行う。

(2) 地下微生物生態系の解明

採取した微生物は、その現場の状態により、大き

く3種に分けられる。すなわち、地下の原油層からの石油代謝菌、熱水等高温層からの超好熱菌、そして岩盤層からの独立栄養微生物である。それぞれについて、菌学的なアプローチ、ならびに16SrRNAの配列決定により、生態系の解明と新規微生物のスクリーニングを行う予定である。分離された微生物の代謝経路についての解析を行ない、深度地下における物質循環について考察する。

独立栄養細菌の存在が認められれば、その代謝経路、生成する有機化合物を解析する。これらの独立栄養微生物は、生物が光合成能を獲得する前の初期地球上での生命について示唆に富む特徴を有しているであろう。さらに独立栄養微生物により放出される有機化合物を資化する従属栄養微生物の存在も考えられ、これらの結果を包括的にまとめ、深度地下における物質循環系について考察を加える。

(3) 深度地下微生物の環境適応戦略の解明

取得した微生物について、高温、疎水(原油)等の深度地下極限環境に生育する微生物の環境適応方法について検討したい。

一例を挙げれば、細胞を致死的な温度で一旦処理した場合ある程度の熱耐性を獲得する現象が観察される。その鍵を握っているのが分子シャペロニンと言う一連のタンパク質であり、タンパク質フォールディングを司るタンパク質として知られている。我々は既に *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1株の分子シャペロニン遺伝子をクローニングしており、大腸菌組換え体から分離精製し、酵素熱安定性に対する影響について解析を行ってきた。その結果、例えば50℃、20分の熱処理後の酵母由来アルコール脱水素酵素の残存活性が分子シャペロニンの添加により、35%から90%以上に上昇することが示され、このシャペロニンが細胞内タンパク質と相互作用し、細胞内における高い熱安定性に寄与していると考えられた。現在は、このシャペロニンを用いて、タンパク質の耐熱化、長寿命化を行う事を考えている。

(4) 新規バイオマテリアルの探索と工業、環境改善への利用

新規微生物の生産する物質から、新規バイオマテリアルを探索する。特に、耐熱酵素、抗生物質、難分解物分解酵素、抗ガン剤(前駆体)等をターゲットとしてスクリーニングを行いたい。耐熱酵素としては、我々の取得したKOD1株から非常に優秀なPCR用のDNAポリメラーゼが単離されており、既

に市販されている例もある。また、アメリカのベンチャー企業が、深度地下微生物の生産する有用物質や抗生物質を大規模にスクリーニングしていると言われている。このように、深度地下の生物資源は、未開拓でありながら既に競争は始まっていると言え、工業利用可能な新規バイオマテリアルの探索は、新規産業と直結しているだけに、今後競争が激化するであろう。

反面、工業的に生産される有用物質、あるいは産業廃棄物の処理によってもたらされる物質の中には微生物が分解し難いものもあり、結果として環境汚染につながっている側面も否めない。近年、環境問題のひとつとして二酸化炭素(産業廃棄物)の過剰放出が原因で起こる地球温暖化問題が深刻化している。地球上という閉鎖系で快適な生活を送るためにはあらゆる面でバランスのとれた物質循環が必要である。

微生物が有する様々な特殊能力を理解し、必要に応じて物質生産のみならず、環境の修復に活用する技術開発が、これから益々重要になってくるであろう。これらの技術はバイオレメディエーションと呼ばれており、活性汚泥による下水処理などはかなり以前から既に実用化されている。

我々の進めている、石油分解菌に限らず、本研究で取得できるであろう微生物の特殊な能力を利用したバイオレメディエーションにより地球環境の浄化と物質循環系の適正化に貢献したいと考えている。

【おわりに】

現代における文明社会は、酸化型の反応によって支えられていると言えないだろうか？つまり、石油などの地下資源を掘り出して、それらを燃焼させてエネルギーを得ることにより様々な活動が為されている。しかし、この事がこれまで保たれてきた地球上の物質循環系のバランスを崩し、結果的に環境汚染や地球温暖化など大きな社会問題を引き起こしている側面が、最近特に表面化してきつつある。我々のプロジェクトの最初の目標は、酸素の存在しない深度地下(つまりは還元的環境)で生育する微生物の特殊な能力に焦点を当て、生態系への理解を深め、有用バイオマテリアルを探索することにある。しかしそれだけではなく、石油分解・合成菌の例(嫌氣的に石油を分解し、また光を必要とせずCO₂固定し石油合成を行う)にあるように、微生物の還元的なプロセスを利用することで、今後、広範囲な地球

規模の人為的汚染状況に対して、積極的に微生物の力を利用することにより滞っている物質循環を潤滑に回転させて地球環境を修復するという形での環境問題解決に貢献したいと考えている。

プロジェクトを通じて、有意義な成果を出し、学術論文はもちろんの事、ワークショップや市民フォーラム等も立案、実施するなどの方法で積極的に情報を発信して行き、成果を出すだけでなく、社会に還元する役割を果たしたいと考えている。