

細菌による三価鉄の異化的還元

岡山大学農学部総合農業科学科 杉尾 剛

地表から 16 km までの地殻中に存在する量が四番目に多い元素、鉄は生物の増殖、生命維持に特に重要な役割を果たしている。鉄が関与するエネルギー生成反応としては、鉄酸化細菌による二価鉄 (Fe^{2+}) の酸化がよく知られているが、最近三価鉄 (Fe^{3+}) を電子受容体にしての有機および無機化合物の酸化反応が注目されている。

有機化合物を基質として微生物が嫌氣的に増殖する際 Fe^{3+} が還元される現象については、1947年 Robert¹⁾ が *Bacillus polymyxa* で報告して以来、多くの細菌に、また硝酸還元酵素が誘導されるある種のカビ²⁾ において見出されてきた。これらの微生物による Fe^{3+} の還元は嫌氣的条件下で行われ、分子状酸素や硝酸イオンで強く抑制されることから、Ottow²⁾ は Fe^{3+} の還元に関与する硝酸還元酵素の関与を示唆した。しかし、これらの Fe^{3+} 還元微生物は、増殖および生命維持に必要なエネルギー生成の大部分を発酵に依存し、有機基質がもつ還元力のわずかな部分が Fe^{3+} を還元するために利用されるにすぎない。

最近、Lovley^{3,4)} らのグループは、アメリカ合衆国 Potomac 川の沈積物から Fe^{3+} 又は Mn^{4+} を唯一の電子受容体として嫌氣的に増殖する、すなわち鉄呼吸、マンガン呼吸と呼んでもよい新規なエネルギー生成機構を用いて増殖できる細菌 *Aeromonas putrefaciens* を単離した。*A. putrefaciens* は、ギ酸、乳酸、ピルビン酸、水素等を電子供与体として利用することができるが、benzoate, toluene, phenol, *p*-cresol などの芳香族炭化水素をも電子供与体にして Fe^{3+} を還元することもでき、河川、湖沼の嫌氣的沈積物中の有機物の分解に重要な役割をはたしていることが示唆された。さらに、興味深い点は、走磁性細菌が菌体内に微細なマグネタイトを形成するのは異なり、*A. putrefaciens* が Fe^{3+} を還元すると菌体外に微細なマグネタイトが形成される点である。Arnold⁵⁾ も、これまで Fe^{3+} の還元を行うことが示されていた菌よりは早い速度で Fe^{3+} を還元できる異化的 Fe^{3+} 還元菌 *Pseudomonas ferrireductant* について報告している。

河川、湖沼沈積物中の微生物による硫酸イオンの還元、脱窒、メタン生成等に比較すると、 Fe^{3+} の還元はあまり注目されなかった。異化的 Fe^{3+} 還元菌は、微生物の持つ新しいエネルギー生成機構の解明に、また嫌氣的沈積物の有機物変換機構の解明に重要な知見を提供してくれるものと期待される。

最近、*A. putrefaciens* とは異なった様式の異化的 Fe^{3+} 還元酵素の存在が、酸性鉱山排水に主として生息し、銅およびウラン等のバクテリアリーチングに利用されている鉄酸化細菌 *Thiobacillus ferrooxidans* で明らかになっている。⁶⁾ 鉄酸化細菌はその名も示すように強力な Fe^{2+} 酸化活性を有しているため、この菌が元素硫黄 (S^0) を電子供与体にして Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元する酵素を持っていることは長い間気づかれなかった。*T. ferrooxidans* AP19-3 株が、 H_2S , S^0 , FeS を電子供与体にして Fe^{3+} を還元し、 Fe^{2+} と亜硫酸 (SO_3^-) を生成する新規な酸化還元酵素 hydrogen sulfide: ferric ion oxidoreductase (SFORase) を持っていること、この酵素がペリプラズマ域に存在していて AP19-3 株の硫黄酸化に中心的な役割をはたしていることなどが明らかにされた。^{7,8)} SFORase による Fe^{3+} の還元反応にはチトクロム類は関与しておらず、AP19-3 株は *A. putrefaciens* のように嫌氣条件下 Fe^{3+} を唯一の電子受容体にして Fe^{3+} 呼吸によって増殖することはできない。AP19-3 株が S^0 を基質にして増殖する場合のエネルギーの生成は、 S^0 が Fe^{3+} を電子受容体にして SFORase によって酸化される際生成される Fe^{2+} が、鉄酸化酵素によって酸化される方法で行われる。⁹⁾

最近、この SFORase が S^0 を電子供与体にして Fe^{3+} を還元するばかりでなく、 Mg^{2+} および Cu^{2+} ⁹⁾ をも電子受容体にし、これら金属イオンを還元できることが明らかにされた。また *T. ferrooxidans* AP19-3 株は、 S^0 を用いて Mn^{4+} を Mn^{2+} に還元できるが、この Mn^{4+} の還元は、SFORase の作用によって生成する Fe^{2+} および SO_3^- が非酵素的に Mn^{4+} を Mn^{2+} に還元する機構によって行われる。

従来鉄酸化細菌においては、 Fe^{2+} , Cu^+ , Sn^{2+} , UO_2 等重金属イオン、還元型無機硫黄化合物に対する酸化酵素の解明を中心に研究が進められてきたが、本菌が金属イオンを酸化するばかりでなく還元できるという新しい機能を合わせ持っていることが明らかになったことで、バクテリアリーチングの機構の解明に、また微生物による重金属の循環機構の解明に新しい展開がもたらされることが期待される。

- 1) Robert, J. L.: *Soil Sci.*, **63**, 135 (1947).
- 2) Ottow, J. C. G., Klopotek, A.: *Appl. Microbiol.*, **18**, 41 (1969).
- 3) Lovley, D. R., Phillips, E. J. P.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **51**, 683 (1986).
- 4) Lovley, D. R. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 700 (1989).
- 5) Arnold, R. G. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 281 (1986).
- 6) Sugio, T. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 1401 (1985).

- 7) Sugio, T. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **169**, 4916 (1987).
 8) 杉尾: 醸酵工学会誌, **67**, 173 (1989).
 9) Sugio, T. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **56** (3), (1990) in press.

高圧環境で生育する微生物

キリンビール(株)基盤技術研究所 水谷 悟

近年, 特殊環境下で生育可能な微生物に関する研究が盛んに行われている. その1つに高圧環境で生育する微生物がある. 世界の海洋の平均水深 3800 m では 380 atm, 最深部の約 11000 m では 1100 atm の水圧を受けている. 深海の環境は低温, 暗黒のみならず, 高水圧の世界でもある. 海洋微生物の重要な生態的役割の1つは, 有機物を分解無機化することであり, 学問的な興味, 深海域環境汚染防止の意味から重要である. 500 atm 以上の高水圧下において 1 atm よりも良好な増殖を示す細菌を好圧細菌 (barophilic bacteria), 好圧細菌の中で 1 atm において増殖できないものを偏性好圧細菌 (obligate barophilic bacteria) と呼ぶ. これまでに ZoBell ら,^{1,2)} Yyanos ら³⁻⁵⁾ により, さまざまな細菌が深海より分離されてきた. その中には, 1000 atm 以上の圧力下でさえも増殖可能な微生物もいる. 加圧下における微生物の増殖は圧力のみではなく温度, 塩分濃度, 酸素濃度, イオン濃度, pH, 加圧時間, 基質の存在の有無など種々の要因により影響を受ける. 微生物が深海に適応するためには高圧に耐える酵素と細胞膜を持つことが必要とされる.

細胞膜に関しては, 深海細菌の膜リン脂質の脂肪酸組成が調べられ, 多量の多価不飽和脂肪酸を含むこと, その含量が圧力変化に対して, 増殖速度の増加に伴って増加すること, 温度および圧力に関して多価不飽和脂肪酸が最適な膜の流動性および機能の維持に関係していることなどが明らかになってきた.^{6,7)}

また, 酵素に関しては, 通常, 微生物の酵素の多くは 100~1000 atm 付近で変性し失活するが, アルカリフォスファターゼ活性についてみると, 深海から分離した細菌では, 1000 atm で著しく促進されることが明らかにされている. 深海では, 常圧よりも溶菌が速やかに起きることが知られており, 細胞膜構造の破壊が原因ではなく, 膜分解酵素のリゾチーム活性が促進されるからだと考えられている. 微生物の圧力に対する抵抗性の差は, 酵素タンパク質の大きさや構造の違いで説明されている.⁸⁾

Jaenicke らは, 好熱メタン細菌において, 圧力変化が細胞内のタンパク質パターンおよびアミノ酸組成に変化をもたらすことを報告した.⁹⁾ 高圧力下で, 常圧では観察されないタンパク質を見い出したが, タンパク合成・分解のバランスが崩れたためか, あるいは熱ショックタンパクに類似した圧力により誘導可能なタンパク質であるかは明らかにされていない.⁹⁾ 一方, Bartlett らは遺伝子操作技術を用いて, 2.5 km の深海より分離した細菌から圧力により誘導可能なタンパク質をコードする遺伝子のクローニングに成功した.¹⁰⁾ クローン化した遺伝子は, 外膜のタンパク質であり, 1 atm で菌を培養した場合には発現されないが, 70 atm から 280 atm にかけて圧力の増加と共に発現量が増大する.

このように, 圧力変化により誘導可能な遺伝子が存在するという事は, 細胞の中に必ず圧力を感じ取るセンサーの役割を果たすもの, つまり, 圧力感受性リプレッサーあるいは圧力依存性アクチペーターのようなものが存在するという事である. 今後, これらの存在が証明されていくと共に, 高圧力環境下に適応するために必要な特別な機能的修飾およびその調節機構が明らかにされていくものと思われる. 研究の進展および各分野への応用の広がりが期待される.

- 1) ZoBell, C. E. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **57**, 179 (1949).
- 2) Oppenheimer, C. H. *et al.*: *J. Mar. Res.*, **11**, 10 (1952).
- 3) Yyanos, A. A. *et al.*: *Science*, **205**, 808-810 (1979).
- 4) Yyanos, A. A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 5212 (1981).
- 5) Yyanos, A. A. *et al.*: *Appl. Envir. Microbiol.*, **44**, 1356 (1982).
- 6) Delong, E. F. *et al.*: *Science*, **228**, 1101 (1985).
- 7) Delong, E. F. *et al.*: *Appl. Envir. Microbiol.*, **51**, 730 (1986).
- 8) Penniston, J. T.: *Archives Biochem. Biophys.*, **142**, 322 (1971).
- 9) Jaenicke, R. *et al.*: *Appl. Envir. Microbiol.*, **54**, 2375 (1988).
- 10) Bartlett, D. *et al.*: *Nature*, **342**, 572 (1989).