

第44卷 (1994) **温泉科学** 第4号

平成6年12月

総 説

温泉の生物学

—特殊環境に生息する藻類と細菌類—

東邦大学医学部生物化学研究室

杉 森 賢 司

Biological Studies of Hot Springs

—Algae and Bacteria Living in Extreme Environments—

Kenji SUGIMORI

Department of Biology,
Toho University School of Medicine

はじめに

温泉を論ずるには地中から湧出する水(温泉水・鉱泉水)のみならず、それに伴う水蒸気、ガス等もあわせて考えるべきである。日本の温泉法によると温度および温泉水に含まれている溶存物質の種類とその量が詳細に規定されている¹⁾。従って、ある一定以上の条件を満たさなければ温泉という名称が使用できない。また、さらに“狭い意味での温泉”は25℃という温度で鉱泉と分けられている。これら温泉はそれらの含有成分の違い、温度、pH等によりさらに詳細に分類されている。しかしその泉質(温度・pHを含む)は四季の変化等の環境条件の変化に大きく左右されず、1年を通じほとんど変化がないので、生物にとっては格好の生息場所になっている。江本によると我が国では100年以上も前から温泉に生息する生物に関する研究が行われていたとされている²⁾。

古くから世界有数の温泉保有国である我が国における温泉生物に関する最初の記載はMarburg大学のRein J.J. (1881)によるものとされている³⁾。それは地理学者のReinが1874, 1875年に日本全国を旅行し、その時の状況を記したものであるが、その中には温泉に関する記載があり、さらに箱根について書いてある項をみると“須沢の岸から湧出している温泉(59℃)に*Conferva* (現在では*Sirogenium* sp.)を認めた”という記述がある。さらに彼はその著書の中で“観察した植物の中でこの*Conferva*が最高の温度で生育している植物である”ということも併せて記述したことにより、これが我が国における温泉生物の最初の記載であるとともに特殊環境に生息する生物

に関する最初の記述でもあると考えられる。さらに、勝山(1888)の北海道定山溪温泉での報告⁴⁾、堀(1890)の島根県玉造温泉、岐阜県濁河温泉での報告⁵⁾、三好(1897)の鉄バクテリア(伊香保温泉)、硫黄バクテリア(日光湯本温泉)の報告⁶⁾に端を発し、温泉の生物に関してはその後多くの報告がある。中でも、1965~1969年にかけて江本は温泉に生息する生物を種ならびにそれらの生息地のpH、温度、泉質別に整理し発表している。それによると植物では細菌類、藻類、蘚苔類、シダ類等が、動物では原生動物門、腔腸動物門、扁形動物門、輪形動物門、環形動物門、軟体動物門、節足動物門、脊椎動物門等に属する生物の生息が確認された^{7~21)}。しかし、これら温泉生物に関する論文が発表されたことにより温泉生物学は完成されたかに見え、その後の温泉生物に関する研究は以前ほど活発でなく、近年では藻類や細菌類を中心とした研究に移行した感がある。一方、海外における温泉生物の研究は藻類の研究者であるAgardh C.A.が1827年にアドリア海北部海岸地帯への調査旅行の帰りに立ち寄ったKarlsbad温泉(ボヘミア)における藻類の研究が最初とされている^{22, 23)}。その後、彼はその成果をいくつかの論文に発表し、さらにその内容について発展させたものをLarobok i botanik (1830~1832)に記載している²⁴⁾。しかし、Brock T.D.によると1862年にCorn F.が“フィールドにおいて、ある場所が様々な色彩に見えるということは単なる興味でなく、その色の違いが生物種の泉温の違いによるすみ分けを表している”という興味深い記述をしたことが真の温泉生物に関する最初の研究であるとしている²⁵⁾。それに引き続きドイツ、イタリア、ロシア、チリ、アメリカ合衆国等の温泉が多く存在する国において温泉生物に関する研究が盛んに行われたが、近年では、特殊環境に生息する生物という観点に立ち研究が行われているのが現状である。その代表的な書物はKushner D.J. (1978)によって編集された特殊環境の微生物という表題の本で、それは第一線の研究者によって、様々な特殊環境に生息する微生物について書かれたものである²⁶⁾。さらに、高温環境下における微生物(藻類や細菌類)についてはBrock T.D. (1978)によって書かれた非常に興味深い書物があり、それにはアメリカ合衆国のYellow Stone National Parkを中心として行われた彼の膨大な研究内容が紹介されている²⁷⁾。

現在、温泉に生息する生物については藻類や細菌類(特に、特殊な環境に生息する種)を中心とした研究が行われている。つまり、それらが持っている特殊な性状や、温泉環境には進化学的にも貴重な生物が生息しているという点から興味を持たれている。さらに、この特殊な性状を持った微生物は産業面での利用価値が高く、また、それらが持っている遺伝子の有用性が認められ分子生物学的にも研究価値が高いということからも注目を集めている。今回、温泉を中心とした特殊環境に生息している藻類と細菌類を取り上げ、ここにそれらの研究の概要を紹介する。

藻 類

特殊環境に生息する藻類としてあげられるのはそのほとんどが藍藻類である。藍藻類(blue-green algae)は核および色素体等の細胞内小器官がなく、形態として単細胞で生活するかまたはそれが連なった糸状体制をとる。また、クロロフィルaや藍藻特有のフィコシアニン等の同化色素は細胞質中に存在し光合成を行っているが、その産物は他の植物が作り出すデンプンではなくグリコーゲンであるという特徴を持っている。

1975年のBrock T.D.によるYellow Stone National Parkの調査により、泉温とそこに生息する藻類について表1のような結果が示された^{25, 28)}。つまり、高温になるに従って温泉に生息する藻類の種が少なくなり、60℃を過ぎるとその数は急激に少なくなることが実証された。Yellow Stone National Parkにおける以前の調査ではSetchell W.A. (1903)が75~77℃にて藻類(*Gloeotheca*

effusa)の生息を認めたという報告²⁹⁾があり、またこれより高い温度において藻類の生息を認めたという報告もある。さらに江本によると、我が国の温泉において、90℃あるいはそれ以上の温度において藻類の生息が確認されたという報告がなされている⁹⁾。しかし、その後、Kempner E.S. (1963)が、“Upper Temperature Limit of Life”という論文の中で、Yellow Stone National Park に生息する藻類(mat)の限界最高温度が73℃であることを述べ³⁰⁾、さらにCastenholz R.W. (1969)³¹⁾、Brock T.D. (1978)²⁷⁾、佐藤(1984)³²⁾らの総論ならびに観察や実験結果等からも表1に示してある“70~75℃にてその生育が確認された藻類(それは*Synechococcus*である)”が、藻類のなかでは

表1 温泉の各種温度域における藍藻類の分布 (Brock T.D. 1978²⁵⁾, Brock T.D. 1975²⁸⁾)

温度(℃)	種の数
10-15	42
15-20	54
20-25	76
25-30	86
30-35	90
35-40	86
40-45	76
45-50	60
50-55	25
55-60	24
60-65	2
65-70	1
70-75	1

最高の生育環境温度を示しているということが示唆された。ところで、このような調査結果の違いに対しては次のような2点が考えられる。つまり、1) 高温の温泉水が自然に流れている環境において流れの中央部には藻類の生育が認められず、流れの端(edge)の方には藻類の生育が観察される(Brock T.D.によるとこれを“V-shaped pattern”と呼んでいる)。流れの中央部と端ではその温度が相当異なっており、その差は10℃以上にもなることが確認されている。流れの端の方では温泉水が急速に冷やされるという事実から、温泉水の温度を測定した場所のわずかなずれが相当の温度の違いを生む可能性があるということ³³⁾、或いは、2) 本来、好熱性の藻類が彼らにとっての至適環境で生息していたが、何らかの影響で今までと異なった環境になった³²⁾(流れの変化による水温上昇や源泉の状態の変化等)ことである。

表2 好熱性藻類

中性付近に至適 pH	1) <i>Synechococcus</i> <i>S. lividus</i>
	2) <i>Oscillatoria</i> <i>O. terebriformis</i> <i>O. animalis</i> <i>O. amphibia</i> <i>O. geninata</i> <i>O. okenii</i>
	3) <i>Phormidium</i> <i>P. laminosum</i>
	4) <i>Calothrix</i> <i>C. marchina</i>
	5) <i>Mastigocladus</i> <i>M. laminosus</i>
酸性付近に至適 pH	6) <i>Cyanidium</i> <i>C. caldarium</i>

ところで、今回、特殊環境としての温泉に生息する藍藻類に分類されている好酸好熱性の*Cyanidium*についてはその分類学的な経緯を含めて解説する。

1) *Synechococcus* 属

特殊環境に生息している藻類としてまず最初に取り上げられるのが*Synechococcus*である。*Synechococcus*には多くの種が含まれているが、好熱性の*Synechococcus*としては*S. lividus*が知られている。その形態は楕円形または円筒形であり、自然界では単独で生活するが、培養すると連鎖することがある³⁴⁾。その生育温度に関する研究はPeary J.ら(1964)によってオレゴン州のHunter's Hot Springsにおける様々な温度条件より得られた*Synechococcus*について行われた。温度による*Synechococcus* クローン株はその至適温度から4タイプに分けられたが、45℃に至適温度を持っているいわゆる

“Low Temperature Strain”については増殖速度が極めて速く、一方、75℃から得た至適温度が65℃の温度株は増殖可能な温度域における増殖速度が遅いことがわかった³⁵⁾。もちろん75℃においては増殖できずBrock T.D. (1978)がこれをあたかも“injured strain”の様であると述べている³⁴⁾。先に述べたように、Brock T.D. ら(1968)もMushroom Spring (Yellow Stone National Park)の泉温73℃の湯だまりおよびそこから流出する1本の細い流れにおいて*Synechococcus*の生息が認められること、さらにそれより泉温の高いGrassland Spring (源泉には湯だまりなし: 82~83℃)では湯の流出により作られた流れにおいて、湯の温度が73~75℃位に冷やされた場所より下流でこの藻類が観察されることを記している^{34, 36)}。また、Meek J.C. ら(1971)が*S. lividus*を用い、光合成を指標としてその生育温度域について調べた。その結果、74℃においては光合成活性が著しく失われることがわかり、従って、73℃がこの藻類にとって生育できる最高温度であると述べている³⁷⁾。すなわち、以上の実験結果から、藻類の中で最も高い温度で生育できると考えられている*Synechococcus*属の中で*S. lividus*が最も耐熱性の藻類であり、その生育最高温度は73℃前後であると考えられた。さらにKempner E.S. (1963)³⁸⁾やBrock T.D. (1967)³⁹⁾らのレポートもその意見を支持するものである。わが国においてこの*S. lividus*は江本(1966)により北海道・湯根湯温泉、秋田県・湯瀬温泉、長野県・中房温泉、地獄谷温泉、上諏訪温泉、静岡県・峯温泉、鳥取県・三朝温泉、島根県・玉造温泉等から分離された報告がある¹¹⁾。また、佐藤らによっても別府温泉より分離された報告があり、その好熱性タンパク質を用いて種々の実験がなされている^{32, 40)}。また、この*S. lividus*はかなり広い範囲に分布しているものと考えられる。

2) *Oscillatoria* 属

*Oscillatoria*属の特徴はほぼ同じ大きさの細胞が一行に連鎖体(糸状)を形成し、細胞群の外側には鞘がないことである。また、この細胞は2分裂で増殖し、その群体は肉眼で青藍色に見える。*Oscillatoria*はユレモと呼ばれているが、それには多くの種があり、それらを分類する場合には細胞群の先端の形や細胞の大きさ等によりその種を決定する。その中で*O. terebri formis* (Castenholz R. W., 1968)⁴¹⁾、*O. animalis* (Famin M. A., 1933)⁴²⁾、*O. amphibia* (Dor I., 1967)⁴³⁾、*O. geninata* (Dor I., 1967 and Peary J., 1964)^{43, 44)}、*O. okenii* (Kol E., 1932)⁴⁵⁾等が、好熱性(上限温度が53~60℃あるいはそれ以上)のユレモとして知られている。

3) *Phormidium* 属

*Phormidium*属の形態は前述のユレモと類似しているが、ユレモと異なり糸状に連なった細胞群の周りには薄い寒天質の鞘があり、それにより相互に接し群体を形成している。*Phormidium*には温泉産のものが多く、なかでもCastenholz R. W (1969)によって報告された*P. laminosum*は好熱性で、その最高生育温度は58~60℃であった⁴⁶⁾。

4) *Calothrix* 属

*Calothrix*の糸状体は基部と頂部に分けられている。また、基部の先端は太く、大きな円盤状の細胞が並んでおり、基底と呼ばれる部分には異質細胞が形成される(中間部に形成されることもある)。さらに、基部から先端にかけて

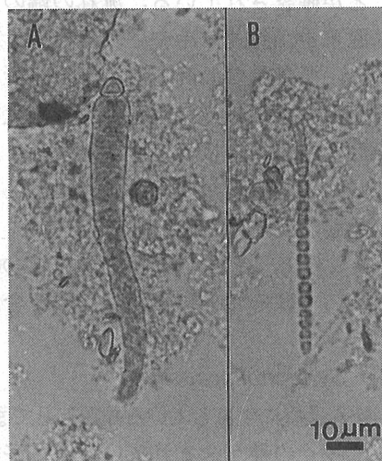


図1 A : *Calothrix* sp.
B : *Phormidium* sp.
(A, Bとも九州・黒岩鉱泉に生息する藻類の光学顕微鏡写真)
(出典: Sugimori K. ら(1991)¹⁷²⁾)

次第に細かくなっており、頂部の細胞は細く円筒状になっているという性質を有する。この藻類は単独または群体で生息し、岩石等に付着性がある。ところで、Castenholz R.W. (1969)³¹⁾によると、Peary J. (1964)⁴⁴⁾の論文に52~54℃を最高生育温度とする好熱性の*Calothrix* sp. および*C. thermalis*の記載があるとされている。また、江本(1965)は宮城県鬼首宮沢温泉の61℃という環境にて*C. marchina*の生息を確認している¹⁰⁾。

5) *Mastigocladus* 属

温泉に生息する藍藻類の中で、*Mastigocladus*は*Synechococcus*に次ぐ好熱性を示し、世界的に広く分布している好熱性藻類である。特に、ニュージーランドやアイスランドでは*Synechococcus*の生息が見られないかわりにこの*Mastigocladus*が好熱性藻類の代表として知られている。さらに、その好熱性はもちろんのこと、アルカリ性泉における生息も認められている。この*Mastigocladus*属には*Mastigocladus laminosus* 1種が記載されており、イデユアイミドリという和名がつけられている。その名前からも温泉産の藻類であることがわかる。また、*M. laminosus*は長く細い分枝(すべて片側に位置する)を伴った1本のフィラメント状形態をとることが知られているが、これはあくまでも基本的構造であって、この他に“細胞形態が樽状か球状でそれが連なったフィラメント状(糸状で、これにおいて分枝を伴わない)”や“分枝を伴わないフィラメント状で異型細胞は形成しない”という2種類の形態をとることがわかっている。さらに、*M. laminosus*は好熱性の窒素固定藍藻類として注目されている。さらに、*M. laminosus*の脂肪酸組成についてみると、それは他の藍藻類と異なっており、むしろ*Cyanidium caldarium*に近い性質を有することもわかっている。ところで、先にも述べたが、Corn F. (1862)が温泉生物について最初の科学的記載をした時に、その対象となったのがこの*M. laminosus*であることも特にここに記しておく。

6) *Cyanidium* 属

好酸性でかつ好熱性の*Cyanidium*属には*Cyanidium caldarium* 1種が記載されている。古くからこの藻類に関する記載があるが、最初にこの種名を提唱したのがGzeitler L. ら(1936)⁴⁸⁾である。しかし、Allen M.B. (1952)によりカリフォルニアのLemonade Springから分離された報告⁴⁹⁾がこの藻類における近代的な幕開けであるということがBrock T.D. (1978)⁵⁰⁾によって記載されている。我が国においても、根来(1942)⁵¹⁾(1943)⁵²⁾や広瀬(1950)⁵³⁾らにより古くから研究対象とされていた特殊な藻類であり、和名ではイデユコゴメと呼ばれている。また、細胞の大きさは2~5 μmで球形を呈し、内生胞子を形成して増殖することが知られている。さらに、*C. caldarium*は他の藻類が生息しない強酸性領域(pH 1~3)においてよく生育するという性質があり、かつ高温環境に多く生息しているのが観察される。また、*C. caldarium*は広く世界に分布していると考えられ、イタリア、北アメリカ、中央アメリカ、イスラエル、インドネシア等の温泉や硫気孔に生息しているのがわかっている⁵⁴⁾。

一方、分類学的にこの*C. caldarium*をみると、かつて

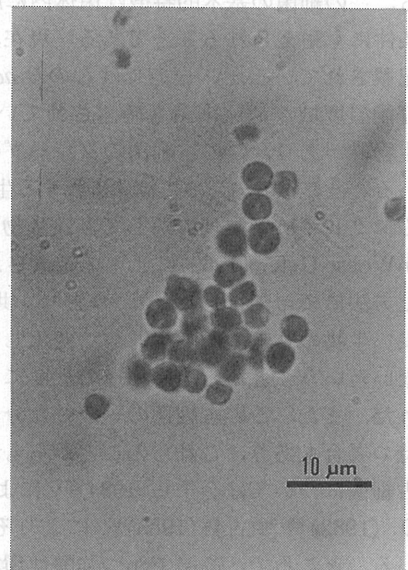


図2 *Cyanidium caldarium* (長島秀行先生のご厚意による)

はその所属が一定せず緑藻植物⁵⁵⁾や藍藻植物の仲間とされていたが、現在では葉緑体をはじめとする色素の種類や細胞内に核が存在すること(真核藻類)等により紅藻類チロリモの新種とみなし、*Rhodococcus* という属名を与え、*C. caldarium* を *R. caldarium* と改めるべきだとしたが、現在でも *C. caldarium* の名称が用いられている⁵⁶⁾。ところで、この藻類の生息最高温度に関する記載は江本と広瀬による秋田県蒸の湯(1942)の89℃が最高記録とされており^{22, 57)}、海外でも80℃前後という報告⁵⁸⁾があるが、Doemel W.N. ら(1970)⁵⁹⁾、Brock T.D. (1978)⁵⁰⁾、長島ら(1984)⁶⁰⁾のその後の研究により55~57℃というのが *C. caldarium* における生育最高温度と考えられている。また、その生育至適温度は45℃で、また、一般的に約30~55℃で増殖でき、約20℃以下では生育できないことが確かめられている^{50, 60)}。筆者も草津温泉西の河原において *C. caldarium* の生態について確かめている(未発表データ)。また、かつては *C. caldarium* と考えられていた中に異なった性状を示す藻類が2種見つかり、それぞれ *Galdieria sulphuraria*, *Cyanidioschyzon merilae* と命名され新種であると記載されたことも併せてここに記載しておく^{54, 61, 62)}。さらにこの特殊な藻類(*C. caldarium* またはそれに類似した藻類)の炭化水素ならびに脂肪酸の組成について調べられたが、それらの種間でいくつかの相違点が発見された⁶³⁾。

細菌類

まず、ここでは温泉という特殊環境に生息する細菌をそれらが生息する環境条件によっていくつかに分類し考えてみることにする。つまり、1) 高温でかつ強酸性環境に生息する細菌、2) 高温でかつ中性付近に至適pHがある温泉に生息する細菌、3) 温度は高くはないが強酸性環境に生息する細菌、の3つに分類した上でそれら特殊環境に生息する細菌について述べることにする。

1) 高温でかつ強酸性環境に生息する細菌

高温でかつ強酸性環境に生息する細菌の中でまず第一にあげられるのが *Bacillus* 属の細菌である。この細菌の基本的特徴は菌体内に孢子を形成することができ、それによりある程度の苛酷な条件にも耐えられることである。現在、この好酸好熱性 *Bacillus* としては *B. acidocaldarius* 1種が記載されているが、一方ではこの *B. acidocaldarius* の性状に類似しており、かつそれよりも増殖可能温度域が低い細菌も確認されている⁶⁴⁾。また、古細菌(Archaeobacteria)と呼ばれる一群の生物群があり、この古細菌のグループには高温でかつ強酸性環境に生息する細菌が数種類属している。ところで、この古細菌に属する生物は16S rRNA(リボソームの小サブユニットの16S rRNA)のヌクレオチド配列に関して真核生物(Eukaryote)や真性細菌(Eubacteria)と異なっていることがWoese C.R. (1969)によって定義された^{65, 66)}(それはWoese C.R. によって1969年に開発された方法によって行われた)。つまり、共通の祖先において、16S rRNAは一定の配列であったが、長い生物の歴史の中で少しずつ変化して現在のようになったこと、その基本的機能は変わっていないということからその相違の程度により生物は真核生物、真性細菌、古細菌の3種類に分類された。また、この古細菌の一般的な分子生物学的性状は真性細菌より真核生物により近い性状を持つ場合もあり、これらのことから、この古細菌は興味深い生物群であると考えられる。この古細菌については金子ら(1984)⁶⁷⁾により本誌の総説にて解説されたことがあり、また、Kandler O. (1982)⁶⁸⁾や古賀(1988)⁶⁹⁾によりそれらの特殊性状、生息環境等について詳細に述べられている。ところで、高温でかつ強酸性環境に生息する古細菌の中で、温泉を主な生息環境としている細菌として、ここでは *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Desulfurolobus*, *Thermoplasma* を取り上げて解説する。

1-a) *B. acidocaldarius*

*B. acidocaldarius*はDarland G. ら(1971)によってYellow Stone National Parkの高温酸性水(44~72℃, pH 2.5~3.3)から分離されたもので、その形態は桿状(桿菌: 0.3~1.0×2~10μm)を呈し、菌体内に孢子を形成する⁷⁰⁾。その増殖至適温度は55℃で、至適pHは3.5~4.5である。Darland G. らの報告の4年前にUchino F. ら(1967)は東北の温泉よりこれに類似した細菌を分離し、それを好酸性な*B. coagulans*と報告した⁷¹⁾が、この好酸性*B. coagulans*をそれとは別の種として記載するべきだというDarland G. ら(1971)の意見が提示され*B. acidocaldarius*という種の名前が付いたという経緯がある⁷⁰⁾。*B. acidocaldarius*の分離に関してはIvanov B.N. ら(1983)⁷²⁾(ドネツ炭田のボタ山より分離)、Uchino F. ら(1983)⁷³⁾(北海道の温泉より分離)、杉森ら(1989)⁷⁴⁾(秋田県乳頭温泉郷黒湯温泉より分離)等の報告があり、その分離対象となったのはほとんどが温泉である。

表3 好熱性細菌—1

酸性付近に至適 pH	
1-a)	<i>Bacillus</i> <i>B. acidocaldarius</i>
1-b)	<i>Sulfolobus</i> <i>S. acidocaldarius</i> <i>S. solfataricus</i> <i>S. shibatae</i> <i>S. hakonensis</i>
1-c)	<i>Acidianus</i> <i>A. infernus</i>
1-d)	<i>Desulfurolobus</i> <i>D. ambivalens</i>
1-e)	<i>Thermoplasma</i> <i>T. acidophilum</i>

1-b) *Sulfolobus*

古細菌の代表的な一つである*Sulfolobus*に関する最初の記載はBrierley J. A. (1966)⁷⁵⁾の学位論文中の短い記述に始まる。それは45~70℃にて増殖可能であり、80℃の加熱に耐えることができる好熱菌のことである。この細菌はYellow Stone National ParkのpH 2.2, 66~69℃の酸性泉から分離されたもので、硫黄や鉄を酸化するエネルギーで増殖できることがわかった。一方、Brock T.D. ら(1972)はYellow Stone National Parkの温泉から新種の細菌を分離することに成功し、その細菌が増殖するときに硫黄を使うこと、ならびにその形態から“*Sulfolobus*”という属名をつけて、この分離株を*Sulfolobus acidocaldarius*とした⁷⁶⁾。*S. acidocaldarius*は形態が不定形(ほぼ球形の“lobe”状でいわゆる木の葉状ともいわれている)で、後に述べる*Thermoplasma*と形は類似しているが、こちらには特殊なcell wallが存在する。ところで、Brock T.D. らの分離した*S. acidocaldarius*は先にBrierley J. A. の報告した細菌に類似しており、特に鉄の酸化に関しては両者に非常に大きな共通点が認められた。しかし、Brierley C.L. ら(1973)は自ら分離した株と、“*Sulfolobus*”との類似点は認められたものの“*Sulfolobus*”の名称は使用しなかった⁷⁷⁾。後に、Mosser J.L. ら(1974)がBrierley J. A. らによって分離された細菌が“*Sulfolobus*”の低温型菌ではないかという意見を述べている⁷⁸⁾。ところで、その後の“*Sulfolobus*”に関する報告はDe Rosa M. ら(1975)がイタリア・ナポリ近くの温泉(Pisciarelli solfatata)より*S. acidocaldarius*とG+C含量(DNAのグアニンとシトシン含量)が異なった好酸好熱菌を分離し⁷⁹⁾、Zillig W. (1980)によって*S. solfataricus*と命名された⁸⁰⁾。その他、“*Sulfolobus*”に類似した菌株はエルサルバドル、アイスランド、ニュージーランドの温泉やドミニカの温泉、土壌、mud pot等からも

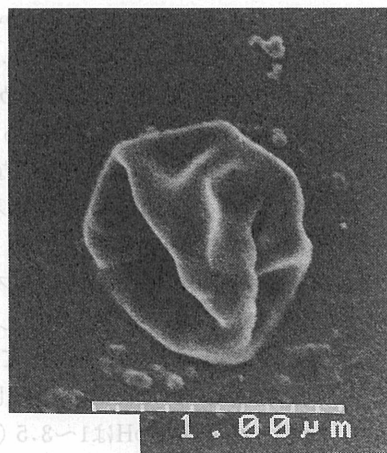


図3 *Sulfolobus* sp. (箱根大涌谷の地熱地帯から分離された細菌の電子顕微鏡写真)(未発表データ)

分離されている⁸¹⁾。ところで、Yeats S. ら(1982)⁸²⁾はUV照射によって*S. acidocaldarius* strain B12 という分離株よりプラスミドを分離した。この株は1979年に九州別府温泉の地熱地帯から分離されたものであり、さらにMartin A. ら(1984)はUV照射によってこの株から環状DNAを含むウイルス様粒子(レモン様形態をしている)が産生されることを発見した⁸³⁾。この時点ではその株が“*S. acidocaldarius*”であるとされていたが、最近、Grogan D. ら(1990)によってこの性状が従来の種と異なっていることが発表された⁸⁴⁾。それは発見者の名前を取って、*S. shibatae* と命名⁸⁴⁾されたが、一方では遺伝学的に非常に興味を持たれる種である。さらに、我が国でもFuruya T. ら(1977)によって箱根大涌谷のmud poolより*S. acidocaldarius*に類似した細菌が分離され、その性状を調べると同時に細胞の脂質の解析も行われた⁸⁵⁾。また、高柳ら(1985)によっても箱根大涌谷のmud pool (pH 1.5, 92~95℃)より*S. acidocaldarius*に類似した細菌が分離されたが⁸⁶⁾、その諸性状が異なり種々検討をした結果、それを新種(*S. hakonensis* ATCC 51241, DSM 7519, JCM 8857, IAM 14250)として登録した(投稿中)。これらの背景から、Sugimori K. ら(1988)⁸⁷⁾(1989)⁸⁸⁾は日本国内の高温酸性泉からこの“*Sulfolobus*”を分離純培養し、その生息分布について検討を行った。

1-c) *Acidianus* 属⁸⁹⁾

Seegerer A. ら(1986)はイタリア、アイスランド、アメリカ合衆国の温泉や海底火山(40~100℃, pH 1.5~6.5)の試料から、 S^0 (分子状イオウ)をエネルギー源とした培地を用い、嫌氣的条件下(H_2 - CO_2)で26株の細菌を分離したことを報告した。この細菌の形態は*Sulfolobus*属の細菌のそれと類似しているが、その諸性状の違いから、彼らは新しい“*Acidianus*”という属を提唱し、分離された細菌は*A. infernus*と命名された。この細菌の至適温度は90℃前後、至適pHは2前後である。一方、その*Acidianus*属に属する*A. brierleyi*は以前に*Sulfolobus*属に属し、好氣的な環境でも嫌氣的な環境でも増殖することが出来る“*Sulfolobus*”とされていたが⁸⁰⁾、そのG+C含量や増殖温度が他の*Sulfolobus*に比べ低いこと、ならびにその嫌氣的条件下(H_2 - CO_2)での増殖能力から、Seegerer A. ら(1986)によって*Acidianus*属に入れることが提案された。

1-d) *Desulfurolobus* 属⁹⁰⁾

Zillig W. ら(1986)によってアイスランドの硫気孔やイタリアの温泉から分離された独立栄養細菌で、それらは炭素源を CO_2 とし、硫黄を酸化するかまたは H_2 存在下における硫黄の還元作用で生活に必要なエネルギーを得ている。この*Desulfurolobus*属に属する細菌は*D. ambivalens* 1種で、その形態は*Sulfolobus*に類似している。増殖至適温度は81℃で、87℃まで増殖可能な株があり、また、増殖可能pHは1~3.5 (至適pHは2.5)の細菌である。なお、電子顕微鏡観察によってウイルス様粒子(レモン様形態)が発見されており、遺伝学的にも興味を持たれている。

1-e) *Thermoplasma* 属⁹¹⁾

1970年、Darland G. らはインディアナ州の南西にあるボタ山(56℃, pH 1.96)から細胞壁を持たない好酸性細菌を3株分離した。その微生物はマイコプラズマ(細菌より小さな微生物で細胞壁を欠いている)に類似しており、中等度好熱菌であることから、*Thermoplasma acidophilum* と命名した⁹²⁾。この細菌の増殖可能温度域は45~62℃(至適温度は59℃)で、増殖可能pHは0.96~3.5 (至適pHは1~2)であることがわかった。この*T. acidophilum*の至適温度をはじめとした諸性状から考えてBrock T.D. らは温泉環境にも生息しているものと考えその分離を試みたが、その分離には成功しなかった。皮肉なことに、条件さえあればボタ山からは分離することが出来た。しかし、大島(1980)の報告の中には別府や箱根の温泉より分離されたという記述がある⁹³⁾。この*T. acidophilum*に関しても膜の脂質については詳細な検討が行われている。

2) 高温でかつ中性付近に至適pHがある温泉に生息する細菌

高温でかつ中性付近を生育条件とする細菌としてはまず *Bacillus* 属の細菌があげられる。その代表的な種として *B. stearothermophilus*, *B. coagulans* 等がある。一方、*Bacillus* とは異なり孢子を形成しない細菌も生息しており、それは *Thermus* 属の細菌である。また前項で取り上げた古細菌に所属する細菌もこの中には数多く含まれており、*Thermoproteus* 属、*Desulfurococcus* 属、*Thermofilum* 属、*Thermococcus* 属、*Archaeoglobus* 属、*Staphylothermus* 属、*Thermodiscus* 属、*Pyrobaculum* 属、*Pyrococcus* 属等がその代表的なものである。さらに、現在105℃という最も高温で増殖可能な *Pyrodictim* 属の細菌も古細菌の一つである。さらに、古くから温泉生物の代表としてあげられている硫黄芝についてもこの項で取り上げ、最近の知見とともに紹介する。

2-a) *Bacillus* 属(*B. stearothermophilus*, *B. coagulans*)⁹⁴⁾

中性付近に増殖至適pHを持ち、孢子を形成する好気性の中等度好熱性細菌はすべてこの *B. stearothermophilus* に属す。これは Donk P. J. (1920) によってトウモロコシの缶詰から分離されたグラム陰性*1の桿菌である⁹⁵⁾。しかし、その後、この細菌は地球上のあらゆる環境から分離され、特に温泉環境や泥の中から分離される例も多いが、それは必ずしも高温環境とは限定されていない。その後、孢子を形成し、好氣的に増殖する好熱性細菌に関しては Allen M. B. (1951) の総説⁹⁶⁾ があり、Wolf J. (1981)⁹⁷⁾ によっても検討されたが、この種は *Bacillus* 属の中で単に65℃にて増殖可能であるという条件のみで分類されているということから多くの種が混在しているのではないかと考えられた。実際、*B. stearothermophilus* に分類されている細菌の G + C 含量は43.5~62.2 mol% とその幅は非常に広く、Walker P. D. (1971) によって3つのグループ(グループ1, 2, 3)に分類することが提唱された⁹⁸⁾。さらに *B. caldolyticus*, *B. caldotenax*, *B. caldovelox* という種が Heinen U. J. (1972) によって報告されたが⁹⁹⁾、これらは *B. stearothermophilus* グループ3に類似した性状を持つことがわかっている。また、ほとんどの *B. stearothermophilus* は楕円形の孢子が菌体の端近くに位置し、鞭毛を有するという基本形態を有している。

ところで、中性付近に増殖至適pHを

表4 好熱性細菌—2

中性付近に至適 pH	
2-a) <i>Bacillus</i>	<i>B. stearothermophilus</i>
	<i>B. coagulans</i>
2-b) <i>Thermus</i>	<i>T. aquaticus</i>
	<i>T. thermophilus</i>
	<i>T. flavus</i>
2-c) <i>Thermoplotus</i>	<i>T. neutrophilus</i>
	<i>T. tenax</i>
2-d) <i>Desulfurococcus</i>	<i>D. mucosus</i>
	<i>D. mobilis</i>
2-e) <i>Thermofilum</i>	<i>T. pendens</i>
2-f) <i>Thermococcus</i>	<i>T. celer</i>
2-g) <i>Archaeoglobus</i>	<i>A. fulgidus</i>
2-h) <i>Staphylothermus</i>	<i>S. marinus</i>
2-i) <i>Thermodiscus</i>	<i>T. maritimus</i>
2-j) <i>Pyrobaculum</i>	<i>P. islandicum</i>
	<i>P. organotrophum</i>
2-k) <i>Pyrococcus</i>	<i>P. woesei</i>
	<i>P. furiosus</i>
2-l) <i>Pyrodictim</i>	<i>P. occultum</i>
	<i>P. brockii</i>
	酸性領域から中性領域にかけての広い範囲
2-m) 硫黄芝	

*1 : グラム陰性 : グラム染色により細菌は2種類に大別される。つまり、細菌細胞の構成成分の違いによりグラム陽性細菌とグラム陰性細菌に分類される。

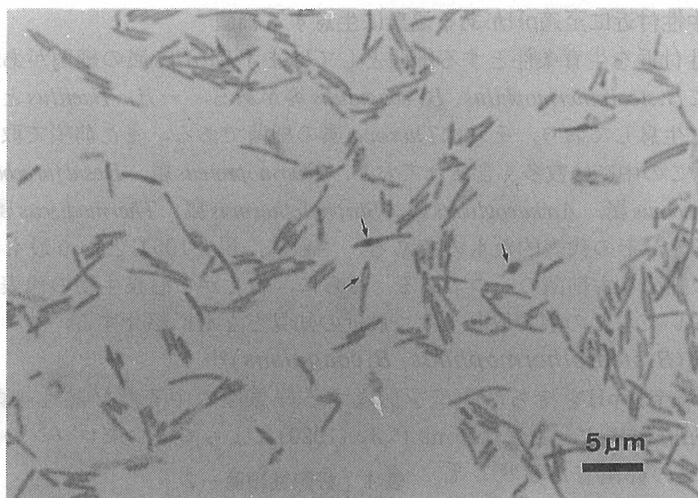


図4 好熱性*Bacillus* sp.

(伊香保温泉から分離された細菌の光学顕微鏡写真、
写真中の矢印は胞子を示す)(未発表データ)

持つ*Bacillus*属の細菌の中で、先にあげた*B. stearothermophilus*に次いで増殖温度が高い細菌は*B. coagulans*である。この細菌はHammer B.W. (1915)¹⁰⁰⁾によって最初に記載された細菌で、55℃で増殖ができその基本的形態は*B. stearothermophilus*に類似している。ここであえて*B. coagulans*を取り上げたのは温泉の“algal mats”に好酸性の*B. coagulans*が生息しているという記載があったことによる。この好酸性の*B. coagulans*はBelly R.T.ら(1974)¹⁰¹⁾によって報告されたが、その後、類似した細菌が草津温泉の西の河原や箱根大涌谷より分離・報告され¹⁰²⁾、さらに、Deinhard G.ら(1987)によっても類似した細菌が分離されている⁶⁴⁾ことをつけ加えておく。

2-b) *Thermus* 属¹⁰³⁾

Brock T.D.ら(1969)により温泉の“algal mats”から好氣的条件下で分離された高度好熱性細菌(真性細菌)であり、*T. aquaticus*と命名された¹⁰⁴⁾。温泉環境から分離された時に用いた培地には低濃度の有機物(0.1% tryptone and 0.1% yeast extract)をエネルギー源として加えてあるが、*T. aquaticus*はこれらの濃度が0.3%以上になると増殖することができない性質を持つ。とこ

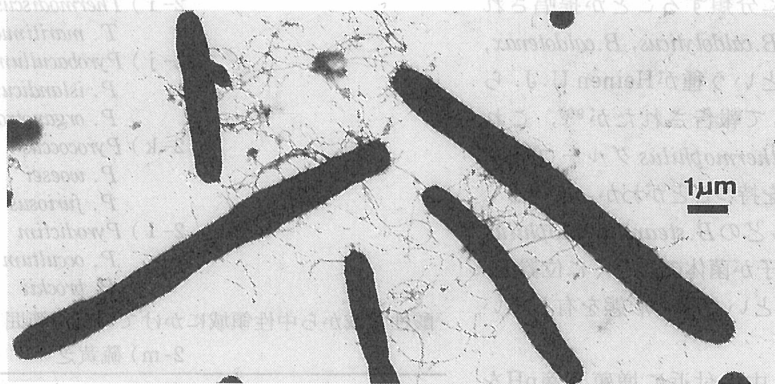


図5 *Thermus* sp.

(栃木県大丸温泉より分離された細菌の電子顕微鏡写真)
(出典：杉森ら(1987)¹⁷³⁾)

るで、この細菌の形態は一般的に長い桿状を呈し孢子は形成しないが、菌体はしばしばフィラメント状になることもある。増殖可能温度域は40~79℃(至適温度は70℃)、増殖pH域は約6~9.5(至適pHは7.5~7.8)である。この増殖にはgrowth factorを必要とせず、窒素源としてNH₄⁺が存在し、シヨ糖やブドウ糖等を炭素源として生育できる。一方、Oshima T.ら(1974)は独自に静岡県峰温泉の温泉水(80℃、pH 6.3)から同様の高度好熱菌を分離し、*T.thermophilus*と命名した¹⁰⁵⁾。その基本的性状は*T.aquaticus*と類似しているが、*T.aquaticus*が増殖できないほどの高濃度の有機物(1% tryptone and 1% yeast extract)が含まれている条件でもこの*T.thermophilus*は増殖可能である点に違いがある。また、一般的性状として*Thermus*は黄色の色素を産生するが、色素を産生しない*Thermus*も Ramaley R. F.ら(1970)によって温排水由来の水(試料採取地点は26℃)から分離報告されている¹⁰⁶⁾。それは*Thermus* sp. X-1株といい、基本的性状は*T.aquaticus*と類似しているが、色素産生能がなく白色のコロニーを形成する。また、静岡県熱川温泉と大分県別府温泉からSaiki T.ら(1972)¹⁰⁷⁾によって分離された種に*T.flavus*があるが、これは*T.Thermophilus*の性状に非常によく類似しており、同一種の可能性がある。

これら*Thermus*属の細菌についてはそれらが持っている特殊な酵素系についての研究が盛んに行われ、遺伝子レベルでの解析も行われている^{108~110)}。

2-c) *Thermoproteus* 属^{111, 112)}

Zillig W.ら(1981)により、有機物、硫黄を含んだ培地を用い、高温環境から採取した試料から嫌気的条件下(95% N₂+5% H₂ ガス or 100% N₂ ガス)、85℃にて分離された。この時用いた試料はアイスランドの硫黄地帯[酸性温泉、湯だまり、泥等：55~100℃(ほとんどが90℃以上)、pH 1.7~6.7(ほとんどがpH 3~6)]より嫌氣的に採取されたもので、そのうちのなんと50%以上から本細菌が分離された。この*Thermoproteus*属に属する細菌は約90℃にて最もよく増殖することができ、それは至適pHの違いで*T.tenax*(至適pHは5: Zillig W.ら1981)と*T.neutrophilus*(至適pHは6.5)の2種類に分類することができる。その基本的構造をみると幅約0.4μm、長さ80μm以上

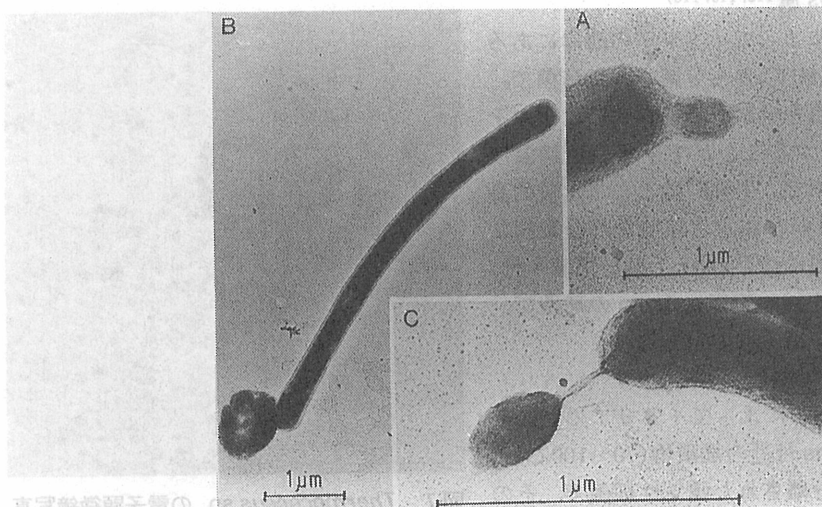


図6 *Thermoproteus* sp.の電子顕微鏡写真

A : *Thermoproteus* sp. strain H3に見られる若い突起部

B : *T. tenax*(細長い菌体の端に突起部が観察される)

C : *T. tenax*(まさしくゴルフクラブ様である)

(Dr. Stetter K.O., Dr. Zillig W.ならびにAcademic Press

社のご厚意による)

(出典 : Stetter K.O. and Zillig W. (1985)¹⁷⁴⁾)

にもなる硬直した桿菌であるが、その形は変化に富んでおり、菌体の端に球菌が付着したような状態(golf club様)、分岐(branched cell)を生じた状態、折れ曲がった(V-shapes)状態、いかだ状(raft)に並列した状態が観察される。

2-d) *Desulfurococcus* 属^{112, 113)}

Zillig W. ら(1982)によってアイスランドの酸性温泉から有機物(yeast extract and bactopectone)を含んだ培地を用い、嫌気的条件下(N₂ ガス)にて分離された高度好熱性細菌である。その形態は“*Sulfolobus*”と異なりはっきりと区別がつく球状(0.3~2 μ m)を呈し、増殖中の*Desulfurococcus* はしばしば対になっている(双球菌状)のが観察される。しかし、この増殖条件で試料から分離した状態ではしばしば細長い桿状の微生物に接触した状態で観察されるが、希釈による方法で球菌のみの純培養が可能である。ところで、彼らによって分離された*Desulfurococcus* 属には*D. mucosus* と*D. mobilis* の2種類が属し、両者ともその至適温度は85 $^{\circ}$ C、至適pHは6 (pH 4.5~7.0で増殖可能)であるが、前者には運動性がなく、後者には運動性があるという違いを持っている。また、この細菌の生息している環境は酸性から中性にかけての温泉で、中性からアルカリ側には生息していないことがわかっている。

2-e) *Thermofilum* 属^{112, 114)}

Zillig W. ら(1983)によってアイスランドでの硫黄泉(pH 2.8~6.7, 100 $^{\circ}$ Cに至る)から分離された嫌気性菌(硫黄呼吸)で、その至適温度が85~90 $^{\circ}$ C、至適pHが5の高度好熱性細菌である。ところで*Thermofilum* 属には*T. pendens* 1種が記載され、その増殖にはペプチド、硫黄、硫化水素が必要であるが、さらに、*Thermoproteus tenax* の抽出物が生育因子(growth factor)として必要であることがわかった。*T. pendens* の基本形態はその幅が0.17~0.35 μ mで、その長さは1~100 μ m以上にもなる細長いフィラメント状(糸状)の細菌で、その菌体の両端からは多くの細いフィラメント(糸状体)からなる繊毛(pili)が出ているのが観察された(参考：*T. librum* という種の記載があるが、ほとんど*T. pendens* と同じ性状を持つ)。

2-f) *Thermococcus* 属^{112, 115, 116)}

Zillig W. ら(1983)によってイタリアの海岸にある硫黄孔の海水だまり(90 $^{\circ}$ C)から分離された球菌で、ペプチドやタンパク質を分解し、硫黄呼吸によりそれらをCO₂まで酸化することができる。至適温度は88 $^{\circ}$ C、至適pHは5.8で、生育環境として比較的高濃度の有機物やNaClが存在する環境を好む細菌である。*Thermococcus* 属には*T. celer* 1種が記載され、その形態は多極鞭毛を持つ直径約1 μ mの球菌で、時折双球菌状の形態をとるものもある。

2-g) *Archaeoglobus* 属^{117~119)}

Setter K.O. ら(1987)によってイタリアの海底のhydrothermal systems 付近の堆積物(70~100 $^{\circ}$ C)より採取した試料から分離された嫌気性細菌で、その増殖可能温度域は64~92 $^{\circ}$ C(至適温度は83 $^{\circ}$ C)、増殖可能pH域は約5.5~7.5である。また、この細菌の形態は不定形の球状を呈し、鞭毛を持つ。ところで、この*Archaeoglobus* 属に属する細菌は*A. fulgidus* 1種であり、有機物の存在下で硫酸、亜硫酸、チオ硫

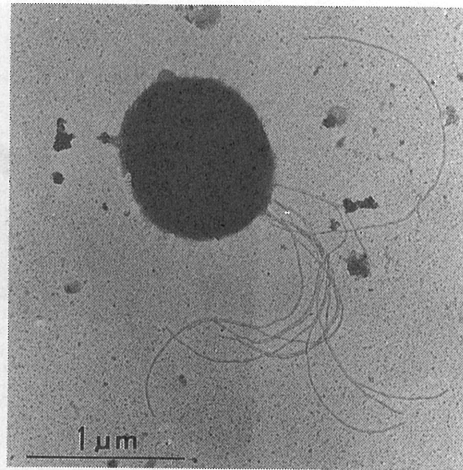


図7 *Thermococcus* sp. の電子顕微鏡写真(*T. celer* の菌体の一カ所から多数の鞭毛が出ているのが観察される)(Dr. Stetter K.O., Dr. Zillig W. ならびにAcademic Press社のご厚意による)(出典：Stetter K.O. and Zillig W. (1985)¹⁷⁴⁾)

酸イオンを電子受容体*2として生育できるが、単体の硫黄は利用することができない。さらにこのような代謝系なので、 H_2S ができるのは当然だが、同時にごく少量のメタンが生成されることについては非常に興味を持たれる点である。A. fulgidusにおけるメタン生成に関しては他のメタン菌に存在するF420 (Factor 420: メタン生成に関与する補酵素)やmethanopterin様の物質の存在が確認されているが、F430 (Factor 430)やcoenzyme Mが存在しないので、なにか他の系が働いてそのメタン生成に関与していると考えられる。

2-h) *Staphylothermus* 属^{112, 120)}

Fiala G. ら(1986)によって海底0.5mの堆積物(54°C, pH 6.5)ならびに海底の熱水噴き出し口(水深2,503mで温度は338°C, これは“black smoker”と呼ばれ、生命の起源と関連がある)から分離された S^0 依存性の絶対嫌気性菌である。この細菌は有機物と S^0 の存在下にて生育することが出来、また、1~3.5% NaCl存在下、およびpH 4.5~8.5でよく増殖し、その至適温度は92°Cまたは85°Cであった。この様な性状を持つ細菌の属名を彼らは*Staphylothermus*属と命名し、それには*S. marinus* 1種が含まれることを記載した。さらにこの菌の特徴はブドウ球菌のようにひとつひとつの菌体(直径0.5~1 μm の球菌)が集まって集団をなしているのが観察されることである。つまり、100個もの細胞が短い連鎖をしたり凝集したりして生活している。さらに、そのG+C含量は非常に低い(35%mol)という特徴を持つ。

2-i) *Thermodiscus* 属¹²¹⁾

Fischer F. ら(1983)によると、この*Thermodiscus*属の細菌は薄い膜に包まれた円盤状を呈し、その菌体からは細長い突起を出しているのが観察され、その生育様式は絶対独立栄養(硫黄、 H_2 、 CO_2 の存在下における海水にて増殖)を営むとされている。従って、これは後述の*Pyrodictim*属に非常に類似した性状を有しているが、その増殖温度は85°Cと低いし、その突起の形態学的特徴も異なる。しかし、分子生物学的な分類法によると、*Thermodiscus*属と*Pyrodictim*属の分類学的位置は同じ場所に位置すること、ならびにその性状等に関するデータが十分でないことから、*Thermodiscus*属については現在もお検討されつつある。一応、*Thermodiscus*属には*T. maritimus* 1種が記載されており、それは海中の熱水(85°C, pH 6.5)から分離された中等度好塩性の細菌である。

2-j) *Pyrobaculum* 属¹²²⁾

Huber R. ら(1987)によって嫌氣的、100°Cの条件下にて分離された超高度高熱性の桿菌である。分離に用いた試料はアイスランド、イタリア等の高熱環境(硫黄孔付近の泥や熱水だまり)から嫌氣的に採取されたもので、様々な環境条件より採取された試料が分離に用いられたが、実際に本菌が分離された環境は93~100°C, pH 6~9であった。ところで、*Pyrobaculum*属には*P. islandicum*と*P. organotrophum*の2種が属し、その至適温度は100°Cで、増殖可能最高温度は102°Cである(ただし、*P. islandicum*の増殖可能最低温度は0.8%NaCl存在下だと74°Cであるが、*P. organotrophum*についてみると、その条件下では増殖出来ないことがわかった)。この細菌の増殖形態には従属栄養(有機化合物を利用して生活増殖する)と独立栄養(無機化合物を利用して生活増殖する)の2種類あるが、前者では S^0 、チオ硫酸、硫酸、シスチン等が電子受容体となり、後者では S^0 か必須電子受容体となる。この場合の電子供与体*3は H_2 または有機物である。*P. islandicum*は通性独立栄養を営み、*P. organotrophum*は絶対従属栄養細菌である。

*2: 電子受容体: 生体のエネルギー生産の一過程である電子伝達系において、電子を受け取る物質のこと。つまり、還元される物質のことである。

*3: 電子供与体: 生体のエネルギー生産の一過程である電子伝達系において、電子を与える物質のこと。つまり、酸化を受ける物質のことである。

2-k) *Pyrococcus* 属^{112, 123)} Zillig W. ら(1987)によって海洋の硫黄孔の堆積物から分離された不定形の球菌で絶対嫌気性菌である。その増殖には有機物を広く利用することができ、様々なパターンで生育することができるが、当然、硫黄を酸化剤として使用する増殖形態もその中に含まれている。この*Pyrococcus* 属の細菌はそれらの増殖様式の違いから*P.woesei*と*P.furiosus*の2種に分類されており、両者とも至適温度は100~103℃、至適pHは6~6.5の超高度好熱性細菌であり、3%NaCl存在下でよく増殖する。ところで、後述の2-1) *Pyrodictim* 属の細菌も*Pyrococcus* 属の細菌と同様100℃以上で増殖するが、*Pyrodictim* 属の細菌で観察された細い繊維によるネットワークは*Pyrococcus* 属では見られないことをはじめとした形態、ならびに*Pyrococcus* 属のG+C含量が37.5~38 mol%と*Pyrodictim* 属の細菌より低いことなどの相違点がある。

2-1) *Pyrodictim* 属^{112, 124)} Stetter K.O. ら(1982)によってイタリアの海底火山(水深2~10m)の堆積物(103℃)より、硫黄を含んだ海水を培地として用い、100℃、H₂/CO₂ (80/20 2気圧)の嫌气的条件下で分離さ

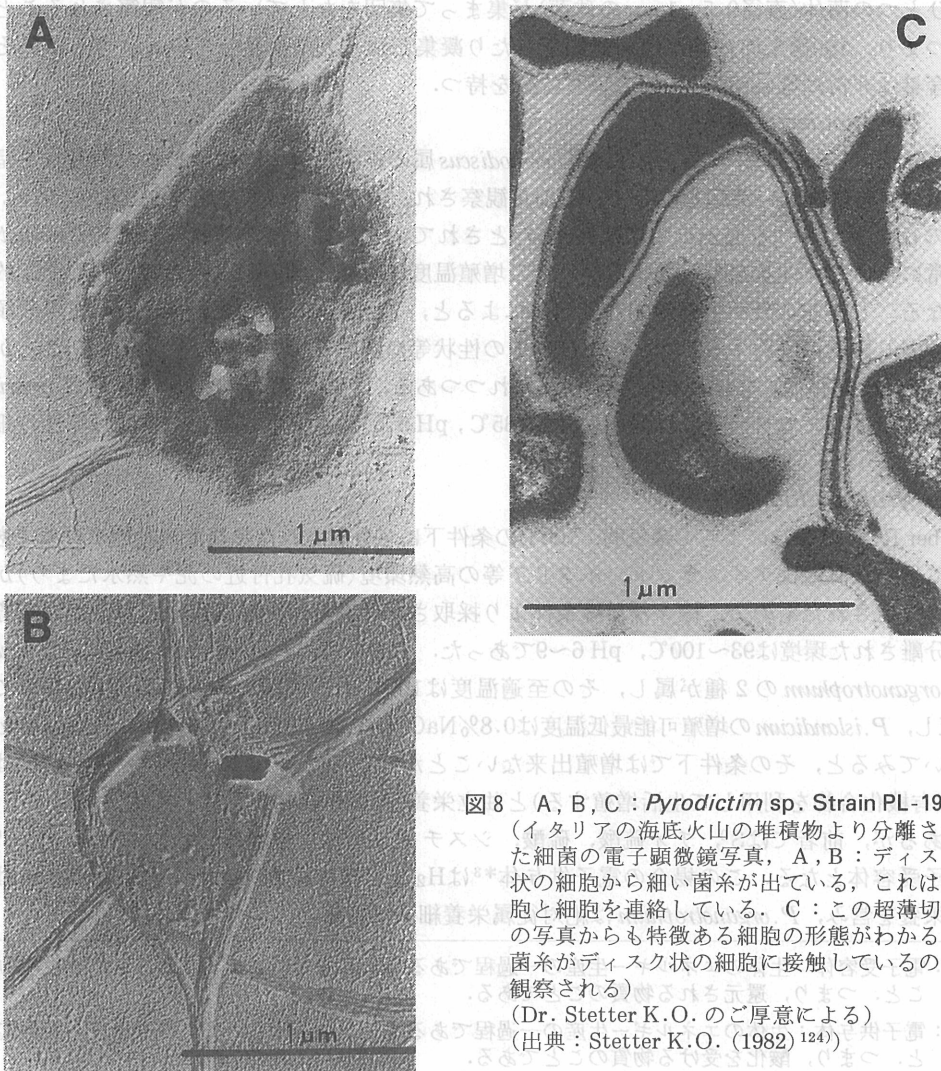


図8 A, B, C : *Pyrodictim* sp. Strain PL-19 (イタリアの海底火山の堆積物より分離された細菌の電子顕微鏡写真, A, B : ディスク状の細胞から細い菌糸が出ている, これは細胞と細胞を連絡している. C : この超薄切片の写真からも特徴ある細胞の形態がわかる. 菌糸がディスク状の細胞に接触しているのが観察される) (Dr. Stetter K.O. のご厚意による) (出典 : Stetter K.O. (1982)¹²⁴⁾)

れた絶対嫌気性の超高度好熱性細菌である。その増殖可能温度域は80~110℃(至適温度は105℃)、増殖可能pH域は5.0~7.0(至適pHは5.5)であるが、無酸素状態における4℃や-20℃で長期間生息することができる。また、その形態は薄い円盤状で、電子顕微鏡観察によるとそれら細胞同士は非常に細長い繊維で結ばれているのが観察された。その後、(Stetter K.O.ら(1983)によってそれらのエンベロープを構成しているタンパク質の違いならびにG+C含量の違いから*Pyrodictim*属には*P. occultum*と*P. brockii*の2種類があるという報告がなされた¹²⁵⁾。本誌(1993年8月号)の「硫黄芝」は強酸性領域から中性領域にかけての広い範囲に生息しているが、あえてここで述べることにする。

Miyoshi M. (1897)は日光湯元温泉に生息する硫黄芝を最初に報告し、“硫黄芝”と命名したのがこの研究の発端になっている⁶⁾。その後の学術的調査はMolisch H. (1926)¹²⁶⁾、江本(1941)¹²⁷⁾ (1942)¹²⁸⁾ (1958)¹²⁹⁾ (1965)^{8, 10)} (1969)²¹⁾、江本ら(1941)¹³⁰⁾ (1942)¹³¹⁾によって行われただけであるが、牧(1980)は1979年の岩手県夏油温泉調査にてそのいくつかの源泉にこの“硫黄芝”が生息するのを確認し、報告した¹³²⁾。ところで、この硫黄芝は数種類の微生物の集合体であるが、江本(1942)によってそれを構成している細菌の違いにより、A:大鎌型細菌(*Thiovibrio miyoshii*)、B:桿菌(*Thiobacillus* sp.), C:糸状細菌(*Thiothrix miyoshii*)の3タイプに分類された¹²⁸⁾。牧(1980)が報告した硫黄芝のうち枯松沢に生息する硫黄芝はこのうちのA型に属し、その主要構成細菌である大鎌型細菌はさらに2種類に分類され、比較的小さな細胞の大きさは約0.5~0.9×2.1~6.0μm、大きな細胞の大きさは約0.9~1.8×8.1~48μmの湾曲した形態をとり、鞭毛を有することがわかっている¹³²⁾。この時採取された硫黄芝の生育温度範囲は55~69.5℃で、生育pHは6.3前後であった。また、貞蔵の湯の湯だまりから採取された硫黄芝はC型であることがわかったが、その翌年の調査では湧出量の増加に伴いその流れからA型硫黄芝の生育が確認されている。その後、



図9 温泉の流れにおける硫黄芝
(白色の糸状に見えるのが硫黄芝)
(ロシア・カムチャッカ半島の
Mutnovsky 地熱地帯にて)
(1993年8月、筆者撮影)

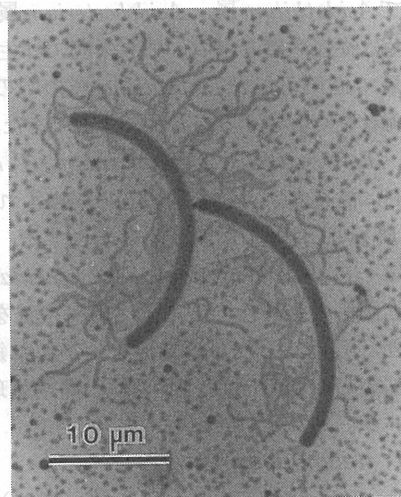


図10 戸田法によって鞭毛染色された
大鎌型細菌の光学顕微鏡写真
(牧・陽之助先生のご厚意による)
(出典:牧(1988)¹³³⁾)

A型硫黄芝については牧によって蟹場温泉、孫六温泉、中の湯、鶴の湯、台温泉においてその生育が確認されており、それらの生育(着床)環境は50~72℃、pH 6.0~8.1であることがわかった¹³³⁾。これらの他にA型硫黄芝の生育条件としては硫化水素が含まれ(その濃度は40 ppmを超えない)、“浅い流水”(微好气的条件: O₂濃度 1 ppm 以下)であることが望ましいこともわかった。さらに、野外調査と室内実験を組み合わせたA型硫黄芝における硫黄酸化機構に関する牧らの微生物生態学的研究には注目すべき点が数多く存在し^{134~136)}、この硫黄芝の生態が徐々に解明されつつある。ところで、生育条件さえあえばこの硫黄芝はどこにでも生育することができ、広く世界中に分布しているものと考えられる。実際にカムチャツカ半島のムツノフスキー地熱地帯の温泉(pH 6.61, 63.9℃)から採取したサンプルにこのA型硫黄芝の生育が認められた(未発表データ・私信)。一方、この硫黄芝を構成している細菌に類似している*Thermotrix thiopara*はCaldwell D. E. ら(1976)によってニューメキシコの温泉(74℃, pH 7.0, HS⁻ 1 mg/l)より分離された通性嫌気性菌で、その増殖温度は62~77℃(至適温度70~73℃)、至適pHは7.0の好熱性細菌である¹³⁷⁾。*T. thiopara*は硫化水素をエネルギー源とし、NO₃⁻を電子受容体とした培地を用い分離された独立栄養細菌であるが、その増殖にはO₂、NO₃⁻またはNO₂⁻を電子受容体とした場合、硫化物、亜硫酸、チオ硫酸、グルコース、マンニトール、アルギニン等を電子供与体として利用し、生育することができる。この細菌の基本的形態は桿状であるが、酸素濃度条件によりフィラメント状の細胞が出現する場合がある^{137~139)}。本菌は江本が提唱したA, B, C型のどれに属するかは不明であるが、牧(1991)によるとC型を構成している細菌に類似していると言われている¹⁴⁰⁾。

3) 生育温度は高くないが強酸性環境に生息する細菌

Acidophilum 属、*Acidobacterium* 属、*Acidomonas* 属の細菌や*Thiobacillus* 属の中の数種類の細菌が強酸性環境(増殖温度は高くない)に生息する細菌としてあげられる^{141~143)}。

その中で*Acidophilum* 属、*Acidobacterium* 属、*Acidomonas* 属の細菌は従属栄養を営み、独立栄養では生育できないが、酸性領域で増殖可能な*Thiobacillus* 属の中の*T. acidophilus*はその両者を使い分けることができる。また、*T. acidophilus*

以外の、*T. thiooxidans*、*T. ferrooxidans*、*T. kabobis*、*T. albertis*は独立栄養しか営むことができない。今回、温泉という特殊環境を考慮に入れ、数種類の好酸性菌の中で独立栄養を営む細菌(*Thiobacillus* 属)に注目して解説することにする。

まず第一に、*T. thiooxidans*、*T. ferrooxidans*を代表としてあげることが出来る。これらの細菌は硫黄鉱山等の強酸性の坑内水や硫黄や鉄を多く含む酸性の土壌や温泉水から頻りに分離することができ、近年、それらの特性を生かした鉱業的利用(バクテリアリーチング: 例として、低品位な銅鉱からの銅の回収)¹⁴⁴⁾や鉱山廃水処理(例: 岩手県松尾鉱山跡の鉱山排水)¹⁴⁵⁾も盛んに行われている。

3-a) *T. thiooxidans*¹⁴¹⁾

*T. thiooxidans*はWaksman S. A. ら(1921)により土壌から分離された細菌で、その増殖に有機物を必要としない完全独立栄養細菌(硫黄およびその化合物を利用し、Fe²⁺は利用できない)である^{146~148)}。増殖至適pHは2~4であり、自然環境においてはpH 1あるいはそれ以下でも増殖することができる細菌である。また、その形態は極鞭毛を有する桿菌でその菌体は約0.5×1~2μmの大きさである。

表5 生育温度が高くない好酸性細菌

<i>Thiobacillus</i>	
3-a)	<i>T. thiooxidans</i>
3-b)	<i>T. ferrooxidans</i>
3-c)	<i>T. albertis</i>
3-c)	<i>T. kabobis</i>
3-d)	<i>T. acidophilus</i>
3-d)	<i>T. organoparus</i>

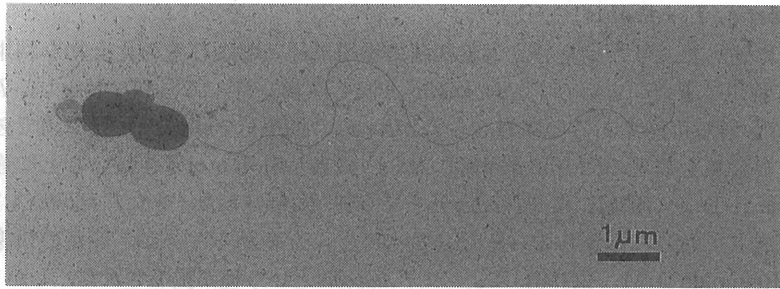


図11 *Thiobacillus* sp.

(ロシア・カムチャッカ半島のMaly Semiachik Volcano Crater Lake (pH 1.0)より分離された細菌の電子顕微鏡写真, 2分裂しているところが確認される)
(未発表データ)

T. thiooxidans について Iwatsuka H. ら (1960) は硫黄を大量に含んだ温泉土壌から分離した菌株を用い、アルコールや他の薬剤による硫黄酸化系の阻害に関する研究を行った¹⁴⁹⁾。さらにその菌株を用い、高桑ら (1980) はその成長生理に関する詳細な研究を行ったが、その中でも特に硫黄酸化系酵素の研究については注目すべきものがある¹⁵⁰⁾。一方、今井ら (1964) は土壌から *T. thiooxidans* を分離し¹⁵¹⁾、その分離株を用いて重金属イオンとの関係を調べた。その結果、興味あることに *T. thiooxidans* が多くの重金属に対して耐性を持ち、 Hg^{2+} 、 Sn^{2+} 、 Cr^{3+} 等以外の金属イオンにおいてはかなりの高濃度でもその生育が阻害されないことがわかった¹⁵²⁾。

また、*T. thiooxidans* はその名前が示すとおり自然界における硫黄の循環に深い関係がある細菌で、硫黄化合物の増減にもそれが密接に関与していることが示唆されている。例えば、草津白根山湯釜のような強酸性火口湖に生息している *T. thiooxidans* はその湖水中のポリチオン酸量の変化に関与していると考えられ¹⁵³⁾、現在、カムチャッカ半島の火口湖において、その考えをふまえた地球科学的共同研究が進行中である¹⁵⁴⁾。

3-b) *T. ferrooxidans*

T. ferrooxidans は Colmer A. R. (1947) によって瀝青炭鉱山の酸性排水から分離され¹⁵⁵⁾、Temple K. L. ら (1951) によって命名された細菌¹⁵⁷⁾ で、 Fe^{2+} を Fe^{3+} に酸化する際に生じたエネルギーを利用して生活することができる独立栄養細菌である。しかし、この細菌は無機硫黄培地にも増殖可能で、さらに *T. thiooxidans* と異なり有機培地においても増殖可能な通性独立栄養細菌 (独立栄養と従属栄養を営むことができる) である。その生育至適 pH ならびにその形態については *T. thiooxidans* のそれに類似している。

今井 (1980)¹⁵²⁾ によると、*T. ferrooxidans* は *T. thiooxidans* と同様に多くの重金属イオンに耐性を持っているが、 Hg^{2+} 、 Ag^{2+} に対しては耐性が弱く、 Sn^{3+} 、 Mo^{6+} 、 U^{6+} に対してもある程度の濃度になると阻害されることがわかった。一方、 Fe^{2+} 酸化酵素 (分子状酵素を利用する酸化反応を触媒する酵素) 活性に関してはこれとほとんど同じ結果を得たが、 U^{6+} に対しては Fe^{2+} 酸化酵素系の活性には関与していないことがわかった (Tuovinen O. H. ら (1974) によると細胞の膜輸送系の阻害らしい¹⁵⁸⁾)。

また、*T. ferrooxidans* の菌体から多くの電子運搬体*4 が発見されたという報告¹⁵⁹⁾ があり、*T. ferrooxidans* の酸化的リン酸化 (電子伝達系において ATP が形成されること) に関する機構解明がなされつつある。

*4 : 電子運搬体 : チトクロムに代表され、呼吸過程において重要な働きをする。つまり、生命活動の基となる ATP を生産する電子伝達系において働いている。

3-c) *T. albertis*, *T. kabobis*^{141, 143, 160)}

両者とも先に述べたような完全独立栄養細菌で増殖に硫黄およびその化合物を利用することができ、 Fe^{2+} は利用できないという*T. thiooxidans*と同じ性状を持っている。しかし、*T. thiooxidans*はpH 1以下でも増殖可能であるのに対し、*T. albertis*の増殖可能pHの下限が2.0であり、また、それらのG+C含量も前者の52~53 mol%に対し、後者が61.5 mol%と高いことに違いがあることから、Bryant R.D.ら(1983)により*T. albertis*という種が提唱された。また*T. kabobis*も*T. thiooxidans*と同じ性状を有しており、それらのG+C含量もほとんど変わらないが、硫黄の代謝に関し相違が認められ、Reynolds D.M.ら(1981)によって*T. kabobis*という種が提唱された。しかし、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1989)には*T. kabobis*という種は掲載されていない。両菌株とも酸性土壌から分離されている。

3-d) *T. acidophilus*^{141, 161)}

*T. acidophilus*はGuay R.ら(1975)によって提唱された種名で、*T. ferrooxidans* TM株を増殖させた無機培地よりDr. Lundgrenによって分離された通性独立栄養細菌である。この運動性は認められていない。一方、Markosyan G.E. (1973)はGuay R.らより早く、*T. acidophilus*に非常に類似した細菌を鉱山排水より分離し、それを*T. organoparus*と命名している¹⁶²⁾。*T. organoparus*には*T. acidophilus*に見られない鞭毛があり、運動性を有するということがわかっている。

あ と が き

この様な特殊な性状を持った微生物についての研究が行われた当初にはその“特殊性”という興味を中心とした報告が主であった。しかし、研究が進むにつれ、それらの微生物についての生理・生化学的の特殊性の解析、特殊性状の産業面での応用、さらに遺伝学的・進化学的意義等が、論じられるようになった。なかでも、生命の起源との関係については特に興味を持たれる点であり、原子生命が誕生した36億年前の地球の状態(分子状酸素がほとんどなく、また、海水の温度は低くなったが、海底のいたるところから熱水が出ている)とここで述べてきた広い意味での温泉(熱水)環境はその“生命の発生の基となった環境”に非常に近いものと推察される。1993年10月発行のTIME誌¹⁶³⁾に“How did life begin?”という表題の興味深い内容の文章が掲載された。生命の起源を論じたいいくつかの推論の中に“Where did life start?”という問いかけがあり、“in the soup (チャールズ・ダーウィンがイメージした有機物に富んだ培養液のような環境)”“hydrothermal vents (地球上に古くから存在すると考えられる数種類の生命体が深海底の熱水孔の周辺に生息している)”“bubbles (“あわ”は生命に必要な多くの物質を集約させ濃縮する—つまりあわが細胞の膜の様な働きをして微分子を包み込んでいる—)”という短い3種類の回答があった。これらのことは先に述べた数種類の超好熱性細菌が熱水環境に生息すること、Baross J.A.ら(1983)によって深海底2,650mにある350℃の“black smoker”から250℃付近を至適温度とする細菌が分離されたこと¹⁶⁴⁾(これについては賛否両論あり)、深海底の熱水系に群がる生物¹⁶⁵⁾等の事実によって裏づけられ、さらに人工的に作られた原始地球に類似した環境における有機酸やアミノ酸の合成実験等によっても推論された。

ところで、特殊環境に生息する生物について論じる場合、そこには当然ながらそれらの耐熱機構や耐酸機構等についての疑問が生じてくる。さて、耐熱機構については以前から行われてきた中等度高熱菌を用いた好熱性の解明よりさらに一歩進み、Oshima T.ら(1976)¹⁶⁶⁾、大島(1976)¹⁶⁷⁾(1973)¹⁶⁸⁾が高度好熱性菌(*Thermus thermophilus*)を用いてその菌体の熱安定性について研究を行った。その結果、生体分子や生命体の耐熱性機構については次の3点に集約することができた。1)

ある分子が熱に対し特別な保護なしにそのもの固有の耐性になっている内在性(本質的な)耐性で、それは遺伝子上にコードされた化学構造により直接的に引き起こされるものと考えられる(これは菌体内酵素に代表される。その耐熱性酵素の耐熱機構の構造上の差異を特定することは難しく、それは分子の一部を組み替えて耐熱性を得ているものと考えられる。その安定化はポリペプチドの折りたたみ構造による)、2) 小さな分子のリガンドによって耐性が保持されている。すなわち細胞成分は特別な保護物質の存在によってのみ耐熱性を得る(好熱菌のプロテアーゼ、アミラーゼはCa²⁺の存在下でのみ高い耐熱性を示す)、3) 熱が耐性を引き起こす(熱誘導)。つまり、細胞構造の耐熱性はその化学組成を変化させる生育温度に関連する。言い換えればその環境温度に依存しているということである(*T. thermophilus*の細胞膜構造はリン脂質が少なく、構造が複雑な新種の糖脂質がその多くを占めているが、一方、その膜脂質を構成するイソ酸とアンテイソ酸のC₁₇/C₁₅の比は培養温度の上昇とともに増大するという性質を示す^{169,170})。つまり、これらのうちいくつかが関連し合って耐熱性が生まれているものと考えられる。さらに古細菌を例にあげるとその膜脂質はエーテル型で糖タンパク質からなる細胞壁を持つという特徴がある¹⁷¹。さらに、古細菌には一部のtRNAにイントロン(最終的にその遺伝子の最終産物として発現しない遺伝子の配列部分)が存在し、また、DNAをRNAに転写する酵素も異なることがわかっている¹⁷¹。一方、好酸菌においては細胞膜を介し、pH勾配を作り細胞内はほぼ中性に保たれている⁹³。古細菌の一つである*Sulfolobus*においてはタンパク質合成系やグルコース代謝系も他の生物と異なっている¹⁷¹。すなわち、一言では言いあらわせない複雑な機構がそれらの特殊性を維持しているものと考えられる。

今回、温泉を中心とした特殊環境に生息する微生物について、それらの生息環境、特殊性状、応用等を取り上げて簡単に解説したが、それらは特殊な性状を持った微生物群のほんの一部分である。さらに現在でも、好アルカリ性細菌、有害物質を分解する細菌、ビニールを分解する細菌、有機溶媒中でも増殖可能な細菌等様々な特殊な性状を持った微生物が次々と分離され、その有用性についても報告されており、これら特殊な環境に生息する生物に関する分野は生命の起源や分子生物学的興味とあわせ今後さらに発展するであろうと考える。なかでも、それらが多く生息していると考えられる“温泉環境”に関してはより一層の科学的研究の発展が望まれる。

謝 辞

今回の総説に関し、掲載の機会を与えて下さいました東京工業大学名誉教授・小坂丈子先生に感謝いたします。また、専門的知識ならびに写真の引用等にご助言ご協力下さいました岩手大学・牧陽之助先生、東京理科大学・長島秀行先生、日本歯科大学・佐藤勉先生、Universität RegensburgのDr. Karl O. Stetter, Max-Planck-Institute für BiochemieのDr. Wolfram Zillig, Academic Press社に感謝いたします。さらに御校閲を賜りました東邦大学医学部教授(生物学研究室)・山田武先生ならびに生物学研究室の諸先生方に感謝いたします。

文 献

- 1) 星野英一, 松尾浩也, 塩野 宏: 温泉法(六法全書平成3年度版, I・II), (p1361-1362, 3有斐閣, 1991)
- 2) 江本義数: 植物研究雑誌, **37**, 283-285, 1962
- 3) Rein J.J.: Japan nach Reisen und Studien im Auftrage der königlich preussischen Regierung

- dargestellt. Band 1. Natur und Volk des Mikadoreiches i-xii, pp 1-630, 1981
- 4) 勝山忠雄：植物学雑誌，2，119-121，1888
 - 5) 堀正太郎：植物学雑誌，4，19-22，1890
 - 6) 三好 学：植物学雑誌，11，285-290，1897
 - 7) 江本義教：温泉工学会誌，2，148-159，1963
 - 8) 江本義教：温泉工学会誌，3，19-29，1965
 - 9) 江本義教：温泉工学会誌，3，89-101，1965
 - 10) 江本義教：温泉工学会誌，3，173-182，1965
 - 11) 江本義教：温泉工学会誌，4，39-50，1966
 - 12) 江本義教：温泉工学会誌，4，90-104，1966
 - 13) 江本義教：温泉工学会誌，4，151-165，1967
 - 14) 江本義教：温泉工学会誌，5，24-31，1967
 - 15) 江本義教：温泉工学会誌，5，61-91，1968
 - 16) 江本義教：温泉工学会誌，6，29-53，1968
 - 17) 江本義教：温泉工学会誌，6，85-111，1968
 - 18) 江本義教：温泉工学会誌，6，135-164，1969
 - 19) 江本義教：温泉工学会誌，7，25-52，1969
 - 20) 江本義教：温泉工学会誌，7，75-108，1969
 - 21) 江本義教：温泉科学，20，126-134，1969
 - 22) 廣瀬弘幸：藻類，1，10-16，1953
 - 23) Gillispie C.C.: Dictionary of Scientific Biography, p69-70, Charles Scribner's Sons, 1970
 - 24) Agardh C.A.: Larobok i Botanik, Thomon, 1829 and 1832 (2 vol.)
 - 25) Brock T.D.: Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature, p41, Springer-Verlag, 1978
 - 26) Kushner D.J.: Microbial Life in Extreme Environments, p1-465, Academic Press, 1978
 - 27) Brock T.D.: Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature, p1-465, Springer-Verlag, 1978
 - 28) Brock T.D.: Predicting the Ecological Consequwnces of Thermal Pollution from Obserbations on Geothermal Habitats. In Environmental Effects of Cooling Systems at Nuclear Power Plants, International Atomic Energy Agency, Vienna, 1975
 - 29) Setchell W.A.: Science, 17, 934-937, 1903
 - 30) Kempner E.S.: Science, 142, 1318-1319, 1963
 - 31) Castenholz R.W.: Bacteriol. Rev., 33, 476-504, 1969
 - 32) 佐藤和彦：遺伝，38 (12), 22-25, 1984
 - 33) Brock T.D.: Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature, p41-46, Springer-Verlag, 1978
 - 34) Brock T.D.: Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature, p39-71 and p217-254, Springer-Verlag, 1978
 - 35) Peary J., Castenholz R.W.: Nature, 202, 720-721, 1964
 - 36) Brock T.D., Brock M.L.: J. Bacteriol., 95, 811-815, 1968
 - 37) Meeks J.C., Castenholz R.W.: Arch. Mikrobiol., 78, 25-41, 1971
 - 38) Kempner E.S.: Science, 142, 1318-1319, 1963

- 39) Brock T.D.: *Nature*, **214**, 882-885, 1967
- 40) Yamaoka T., Satoh K., Katoh S.: *Plant Cell Physiol.*, **19**, 943-954, 1978
- 41) Castenholz R.W.: *J. Phycol.*, **4**, 132-139, 1968
- 42) Famin M.A.: *Rev. Gen. Botan.*, **45**, 574-595 and 655-682, 1933
- 43) Dor I.: *Sea Fish Res. Sta. Haifa Bull.*, **48**, 3-29, 1967
- 44) Peary J.: Ph. D. Thesis Univ. of Oregon, Eugene, 1964
- 45) Kol E.: *Arch. Protistenkunde*, **76**, 309-324, 1932
- 46) Castenholz R.W.: *J. Phycol.*, **5**, 360-368, 1969
- 47) Brock T.D.: *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature*, p217-254, Springer-Verlag, 1978
- 48) Giter L., Rutter F.: *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, **XIV**, 308-481, 1936
- 49) Allen M.B.: *Arch. Microbiol.*, **17**, 34-53, 1952
- 50) Brock T.D.: *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature*, p255-302, Springer-Verlag, 1978
- 51) 根来健一郎: *陸水学雑誌*, **12**, 41-49, 1942
- 52) 根来健一郎: *植物学雑誌*, **57**, 302-312, 1943
- 53) 廣瀬弘幸: *植物研究雑誌*, **25**, 179-184, 1950
- 54) 長島秀行: 堀輝三編, *藻類の生活史集成 第2巻 褐藻・紅藻*, p184-189, 内田老鶴圃, 1993
- 55) Hirose H.: *植物学雑誌*, **63**, 107-111, 1950
- 56) Hirose H.: *植物学雑誌*, **71**, 347-352, 1958
- 57) 江本義数, 廣瀬弘幸: *植物学雑誌*, **56**, 332-343, 1942
- 58) Allen M.B.: *Arch. Mikrobiol.*, **32**, 270-277, 1959
- 59) Doemel W.N.: *Arch. Mikrobiol.*, **72**, 326-332, 1970
- 60) 長島秀行: *SUT Bulletin*, **1**, 58, 1984
- 61) Nagashima H., Ueki K., Fukuda I., Seckbach J.: *Endocytobiology V*, 5th International Colloquium on Endocytobiology and Symposium (Sato S., Ishida M., Ishikawa H. ed.), 279-285, 1992
- 62) Nagashima H., Fukuda I.: *Jap. J. Phycol.*, **29**, 237-242, 1981
- 63) Nagashima H., Matsumoto G.I., Fukuda I.: *Phytochemistry*, **25**, 2339-2341, 1986
- 64) Deinhard G., Blanz P., Poralla K., Altan E.: *System. Appl. Microbiol.*, **10**, 47-53, 1987
- 65) Woese C.R., Fox G.E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 5088-5090, 1977
- 66) Woese C.R.: *Sci. Amer.*, **244** (6), 98-122, 1981
- 67) 金子 弘, 古屋禎佑: *温泉科学*, **34**, 28-37, 1984
- 68) Kandler O. ed.: *Archaeobacteria*, Gustav Fischer Verlag, p1-366, 1981
- 69) 古賀洋介: *古細菌(UP Biology)*, p1-150, 東京大学出版会, 1988
- 70) Darland G., Brock T.D.: *J. Gen. Microbiol.*, **67**, 9-15, 1971
- 71) Uchino F., Doi S.: *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 817-822, 1967
- 72) Ivanov V.N., Tsimberg E.A.: *Mikrobiol. Zh.*, **45**, 20-27, 1983
- 73) Uchino F, Fukuda O.: *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 965-967, 1983
- 74) 杉森賢司, 高柳進之輔, 代谷次夫: *東邦医学会誌*, **34**, 508-515, 1988
- 75) Brierley J.A.: Ph.D Thesis, Montana State Univ. Bozeman, 1966
- 76) Brock T.D., Brock K.M., Belly R.T., Weiss R.L.: *Arch. Mikrobiol.*, **84**, 54-68, 1972

- 77) Brierley C.L., Brierley J.A.: *Can. J. Microbiol.*, **19**, 183-188, 1973
- 78) Mosser J.L., Mosser A.G., Brock T.D.: *Arch. Mikrobiol.*, **97**, 169-179, 1974
- 79) De Rosa M., Gambacorta A., Bu'lock J.D.: *J. Gen. Microbiol.*, **86**, 156-164, 1975
- 80) Zillig W., Stetter K.O., Wunderl S., Schulz W., Priess H., Scholz I.: *Arch. Mikrobiol.*, **125**, 259-269, 1980
- 81) Brock T.D.: *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature*, p117-179, Springer-Verlag, 1978
- 82) Yeats S., McWilliams P., Zillig W.: *EMBO J.*, **1**, 1035-1038, 1982
- 83) Martin A., Yeats S., Janekovic D., Reiter W.-D., Aicher W., Zillig W.: *EMBO J.*, **3**, 2165-2168, 1984
- 84) Grogan D., Palm P., Zillig W.: *Arch. Mikrobiol.*, **154**, 594-599, 1990
- 85) Furuya T., Nagumo T., Itoh T., Kaneko H.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1607-1612, 1977
- 86) 高柳進之輔, 杉森賢司, 千頭道子: 東邦大学教養紀要, **17**, 43-52, 1985
- 87) Sugimori K., Takayanagi S., Aikawa K., Shiroya T.: *Kagoshima International Conference on Volcanoes Proceedings*, p890-893, 1988
- 88) Sugimori K., Takayanagi S., Aikawa K., Shiroya T.: *5th International Symposium on Microbial Ecology Abstract*, p117, 1989
- 89) Segerer A., Neuner A., Kristjansson J.K., Stetter K.O.: *Int. J. System. Bacteriol.*, **36**, 559-564, 1986
- 90) Zillig W., Yeats S., Holz I., Bock A., Rettenberger M., Gropp F., Simon G.: *System. Appl. Microbiol.*, **8**, 197-203, 1986
- 91) Brock T.D.: *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature*, p92-116, Springer-Verlag, 1978
- 92) Darland G., Brock T.D., Samsonoff W., Conti S.F.: *Science*, **170**, 1416-1418, 1970
- 93) 大島泰郎: 細胞, **12**, 372-378, 1980
- 94) Sneath P.H.A.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol.2)* (Sneath P.H.A etc. ed.), p1104-1139, Williams & Wilkins, 1986
- 95) Donk P.J.: *J. Bacteriol.*, **5**, 373-374, 1920
- 96) Allen M.B.: *Bacteriol. Rev.*, **17**, 125-173, 1953
- 97) Wolf J., Sharp R.J.: *The Aerobic Endospore-forming Bacteria*, p251-296, Academic Press, 1981
- 98) Walker P.D., Wolf J.: *Spore Research (Baker A.N., Gold G.W., Wolf J. ed.)*, p247-262, Academic Press, 1971
- 99) Heinen U.J., Heinen W.: *Arch. Mikrobiol.*, **82**, 1-23, 1972
- 100) Hammer B.W.: *Iowa Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, **19**, 175-177, 1974
- 101) Belly R.T., Brock T.D.: *J. Appl. Bacteriol.*, **37**, 175-177, 1974
- 102) 杉森賢司, 高柳進之輔, 千頭道子, 相川嘉正: 温泉科学, **36**, 108, 1986
- 103) Brock T.D.: *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature*, p72-91, Springer-Verlag, 1978
- 104) Brock T.D., Freeze H.: *J. Bacteriol.*, **98**, 289-297, 1969
- 105) Oshima T., Imahori K.: *Int. J. System. Bacteriol.*, **24**, 102-112, 1974
- 106) Ramaley R.F., Hixson J.J.: *J. Bacteriol.*, **103**, 527-528, 1970

- 107) Saiki T., Kimura R., Arima K.: *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 2357-2366, 1972
- 108) Iijima S., Uozumi T., Beppu T.: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 589-592, 1986
- 109) 大島泰郎: 異常環境と微生物酵素, p1-152, 講談社, 1977
- 110) 大島泰郎: 好熱性細菌(UP Biology), p1-170, 東京大学出版会, 1978
- 111) Zillig W., Stetter K.O., Schafer W., Janekovic D., Wunderl S., Holz I., Palm P.: *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.*, **C2**, 205-227, 1981
- 112) Koning H., Stetter K.O.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol.3) (Staley J.T. etc. ed.)*, p2171-2253, Williams & Wilkins, 1989
- 113) Zillig W., Stetter K.O., Prangishvilli D., Schafer W., Wunderl S., Janekovic D., Holz I., Palm P.: *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig.*, **C3**, 304-317, 1982
- 114) Zillig W., Gierl A., Schreiber G., Wunderl S., Janekovic D., Stetter K.O., Klenk H.-P.: *System. Appl. Microbiol.*, **4**, 79-87, 1983
- 115) Stetter K.O.: *Thermophilus, General Molecular and Applied Microbiology (Brock T.D. ed.)*, John Wiley & Sons, 1986
- 116) Zillig W., Holz I., Janekovic D., Schafer W., Reiter W.: *System. Appl. Microbiol.*, **4**, 88-94, 1983
- 117) Stetter K.O., Lauerer G., Thomm M., Neuner A.: *Science*, **236**, 822-844, 1987
- 118) Stetter K.O.: *System. Appl. Microbiol.*, **10**, 172-173, 1988
- 119) Zellner G., Stackebrandt E., Kneifel H., Messner P., Sleytr U.B., Conway De Macario E., Zabel H.-P., Stetter K.O., Winter J.: *System. Appl. Microbiol.*, **11**, 151-160, 1989
- 120) Fiala G., Stetter K.O., Jannasch H.W., Langworthy T.A., Madon J.: *System. Appl. Microbiol.*, **8**, 106-113, 1986
- 121) Fischer F., Zillig W., Stetter K.O., Schreiber G.: *Nature*, **301**, 511-513, 1983
- 122) Huber R., Kristjansson J.K., Stetter K.O.: *Arch. Microbiol.*, **149**, 95-101, 1987
- 123) Zillig W., Holz I., Klenk H.-P., Trent J., Wunderl S., Janekovic D., Imsel E., Haas B.: *System. Appl. Microbiol.*, **9**, 62-70, 1987
- 124) Stetter K.O.: *Nature*, **300**, 258-260, 1982
- 125) Stetter K.O., Koning H., Stackebrandt E.: *System. Appl. Microbiol.*, **4**, 535-551, 1987
- 126) Molisch H.: *Pflanzenbiologie, Japan auf Grund eigener Beobachtungen*, p81-83, Verlag von Gustav Fischer, 1926
- 127) 江本義数: 温泉科学, **1**, 119-138, 1941
- 128) 江本義数: 生態学研究, **8**, 94-98, 1942
- 129) 江本義数: 温泉研究, **14**, 4-21, 1958
- 130) 江本義数, 米田勇一: 温泉科学, **1**, 8-16, 1941
- 131) 江本義数, 廣瀬弘幸: 温泉科学, **2**, 148-161, 1942
- 132) 牧陽之助: 岩手医大教養部研究年報, **15**, 21-27, 1980
- 133) 牧陽之助: 遺伝, **42**, 40-43, 1988
- 134) Maki Y.: *J. Gen. Microbiol.*, **32**, 203-213, 1986
- 135) Maki Y.: *J. Gen. Microbiol.*, **33**, 123-134, 1987
- 136) Maki Y.: *J. Gen. Microbiol.*, **33**, 391-400, 1987
- 137) Caldwell D.E., Caldwell S.J., Laycock J.P.: *Can. J. Microbiol.*, **22**, 1509-1517, 1976
- 138) Caldwell D.E.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol.3) (Staley J.T. etc. ed.)*,

- p1868-1871, Williams & Wilkins, 1989
- 139) Brannan D.K., Caldwell D.E.: *Appl. Env. Microbiol.*, **40**, 211-216, 1980
- 140) Maki Y.: *Bull. Japanese Soc. Microbiol. Ecology*, **6**, 33-43, 1991
- 141) Kelly P., Harrison A.P.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (vol.3) (Staley J.T. etc. ed.), p.1842-1858, Williams & Wilkins, 1989
- 142) 田野達男: *化学と生物*, **32**, 160-168, 1994
- 143) Reynolds D.M., Laishley E.J., Costerton J.W.: *Can. J. Microbiol.*, **27**, 151-161, 1981
- 144) 伊東一郎: *バクテリアリーチング*, p1-132, 講談社, 1976
- 145) 今井和民: *独立栄養細菌*, p1-188, 化学同人, 1984
- 146) Waksman S.A., Joffe J.S.: *Science*, **53**, 216, 1921
- 147) Lipman J.G., Waksman S.A., Joffe J.S.: *Soil Sci.*, **12**, 475-489, 1921
- 148) Waksman S.A., Joffe J.S.: *J. Bacteriol.*, **7**, 239-256, 1922
- 149) Iwatsuka H., Mori T.: *Plant & Cell Physiol.*, **1**, 163-172, 1960
- 150) 高桑 進, 富永典子, 岩崎秀一: *微生物の生態* 8, p137-152, 学会出版センター, 1980
- 151) 今井和民, 奥穂昌世, 片桐英郎: *醸酵工学雑誌*, **42**, 755-761, 1964
- 152) 今井和民: *微生物の生態* 8, p153-172, 学会出版センター, 1980
- 153) 越田正樹, 大沢信二, 杉森賢司, 高柳進之輔, 綿抜邦彦, 高野穆一郎: 1990年度日本地球化学会年会抄録, p204, 1990
- 154) 杉森賢司, 高野穆一郎, 松尾基之, 鈴木勝彦, 加藤尚之, Fazlullin S.M.: *日本農芸化学会誌*, **68**, 275, 1994
- 155) Colmer A.R., Hinkle M.E.: *Science*, **106**, 253-256, 1947
- 156) Colmer A.R., Temple K.L., Hinkle M.E.: *J. Bacteriol.*, **59**, 317-328, 1950
- 157) Temple K.L., Colmer A.R.: *J. Bacteriol.*, **62**, 605-611, 1951
- 158) Tuovinen O.H., Kelly D.P.: *Arch. Microbiol.*, **95**, 153-164, 1974
- 159) Ingledew W.J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **683**, 89-117, 1982
- 160) Bryant R.D., McGroarty K.M., Costerton J.W., Laishley E.J.: *Can. J. Microbiol.*, **29**, 1159-1170, 1983
- 161) Guay R., Silver M.: *Can. J. Microbiol.*, **21**, 281-288, 1975
- 162) Markosyan G.E.: *Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R. Ser. Biol.*, **211**, 1205-1208, 1973
- 163) Nash J.M.: *TIME*, **142** (15), 36-42, 1993
- 164) Baross J.A., Deming J.W.: *Nature*, **303**, 423-426, 1983
- 165) 小池勲夫, 蒲生俊敬: *科学と工業*, **42**, 1188-1192, 1989
- 166) Oshima T., Sakai Y., Wakayama N., Watanabe K., Ohashi Z., Nishimura S.: *Experientia Suppl.*, **26**, 317-331, 1976
- 167) 大島泰郎: *生化学*, **48**, 895-901, 1976
- 168) 大島泰郎: *蛋白質・核酸・酵素*, **18**, 454-458, 1973
- 169) Oshima M., Ariga T.: *FEBS letters*, **64**, 440-442, 1976
- 170) 渡辺公綱, 本波康由: *細胞*, **12**, 379-387, 1980
- 171) 大島泰郎: *Bio Industry*, **6**, 78-84, 1989
- 172) Sugimori K., Mifune M., Yuhara K.: *J. Balneol. Soc. Japan*, **41**, 169-177, 1991
- 173) 杉森賢司, 高柳進之輔: *東邦大学教養紀要*, **19**, 53-65, 1987
- 174) Stetter K.O., Zillig W.: *The Bacteria Vol.8* (Woese C.A. and Wolfe R.S. ed.), p85-170, Academic press, 1985