
総 説

長野県の中房温泉における微生物の エネルギー代謝と太古代の生物進化

松浦克美^{1) 2)*}, Shawn E. McGlynn²⁾, 河合 繁³⁾

(令和5年3月8日受付, 令和5年5月20日受理)

Energy metabolism of microorganisms in Nakabusa hot spring of Nagano Prefecture and the evolution of life in the Archean

Katsumi MATSUURA^{1) 2)*}, Shawn E. McGlynn²⁾ and Shigeru KAWAI³⁾

Abstract

Microorganisms of various colors and textures often grow in aggregates in hot spring streams. They form microbial mats more than a few millimeters thick and elongated streamers more than a few centimeters that sway in the streams. Nakabusa hot spring in Nagano Prefecture is one of the places where microorganisms in hot spring streams are well developed. The color difference is related to the energy metabolism of the microorganisms. At temperatures between 90°C and 70°C, chemosynthetic microorganisms, which are black, gray, white, transparent, or light beige, obtain energy through electron transfer reactions with inorganic substances. From 70°C to 62°C, the mats become colorful with olive green, orange, and light brown, and photosynthetic microorganisms that use the energy of light and electrons from hydrogen sulfide and hydrogen grow. At 62°C to 45°C, the surface of the microbial mat is dark green and contains cyanobacteria, which are photosynthetic microorganisms that can use the energy of light and the electrons of water. Cyanobacteria release oxygen as a result of using the electrons of water. The growth of these three types of communities, along with the temperature decrease, may suggest that the earth's temperature was around 100°C when life began and that chemosynthetic microorganisms existed from an early stage. It is suggested that photosynthetic microorganisms that use electrons, such as hydrogen sulfide and hydrogen, appeared in the course of evolution along with the subsequent

¹⁾ 代謝初期進化研究所 〒144-0043 東京都大田区羽田 3-2-6. ¹⁾ Institute for Early Metabolic Evolution.

*Corresponding author : E-mail katsumimatsuura@gmail.com.

²⁾ 東京工業大学 地球生命研究所 〒152-8550 東京都目黒区大岡山 2-12-1-IE-1. ²⁾ Earth Life Science Institute, Tokyo Institute of Technology.

³⁾ 国立研究開発法人海洋開発研究機構 超先鋭研究開発部門 超先鋭研究開発プログラム 〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町 2-15. ³⁾ Super-cutting-edge Grand and Advanced Research (SUGAR) Program, Institute for the Extra-cutting-edge Science and Technology Avant-garde Research (X-star), Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology.

decrease in global temperature, and then cyanobacteria that use the energy of light and the electrons of water were made available through the evolution of the water oxidizing protein complex.

Key words : thermophilic microbes, chemosynthesis, photosynthesis, energy metabolism, biological evolution, Nakabusa hot springs

要 旨

高温の温泉水中には、温度に応じてさまざまな色や形状の微生物が集合体で生育していることがある。それらは数ミリメートル以上の厚さの微生物マットや、流れの中でゆれ動く数センチメートル以上の細長いストリーマーを形成する。長野県の中房温泉では、温泉水の温度によって異なる色の微生物がよく生育している。色の違いは、そこに生育している微生物のエネルギー代謝に関係する。90℃から70℃では、黒、灰色、白、薄いベージュなどの色をしており、無機物を用いた電子伝達反応でエネルギーを得る化学合成微生物が見られる。70℃から62℃では、微生物マットはオリーブグリーンやオレンジや薄茶色とカラフルになり、光のエネルギーを使用して硫化水素や水素などからの電子を利用する光合成微生物が生育している。62℃から45℃では、微生物マットの表面は濃緑色で、光のエネルギーと水の電子を利用できるシアノバクテリアがいる。シアノバクテリアは水の電子を利用した結果として、酸素を放出する。温泉水の温度低下にそってこれら3種類の微生物群集が生育していることは、生命が誕生した頃の地球は100℃前後の高温であり、先に化学合成微生物が存在した可能性がある。その後の地球温度の低下にそった進化の過程で硫化水素や水素などの電子を利用する光合成微生物が出現し、やがて光のエネルギーと水の電子を利用するシアノバクテリアが出現したと考えられる。

キーワード：好熱性微生物, 化学合成, 光合成, エネルギー代謝, 生物進化, 中房温泉

発表した学会名：日本温泉科学会第75回大会, 2022年9月8日

1. はじめに

地球上ではさまざまな環境にさまざまな生物が存在している。温度という観点からみると、普通の動植物は45℃付近まで生きられるが、それ以上の温度では微生物のみの世界となる。そのような高温で生きる微生物は「好熱性微生物」と呼ばれ、中には100℃を超える温度でも生育できる種類がある。世界各地に湧出する高温の温泉中には、さまざまな好熱性微生物が生育する様子が見られる。

高温温泉中の微生物についてはいろいろな目的で研究が行われているが、その中の一つに、太古代の生物の進化を探るための研究がある。地球の歴史において、太古代はFig. 1に示すように約40億年前から25億年前までの時期（日本地質学会, 2022）で、40億年前ごろに地球上で生命活動が始まり、25億年前ごろから大気酸素濃度が増加してきたと考えられている（Laneら, 2010）。この時期には、現在の動植物やそれに近い生物は存在せず、アーキアと細菌の2つのグループの微生物のみが存在していた。アーキアは、1977以降1980年代までは細菌と同じグループだと考えられ古細菌と呼ばれていたが（Woese and Fox, 1977）、研究の進展により細菌とはまったく別のグループだということが分かってからは（Woeseら, 1990）、アーキアと呼ばれることが多い。



Fig. 1 Geological age of the earth

本総説では、高温の温泉水中に存在する微生物と太古代の生物進化との関係を、生物のエネルギー代謝との関係で考察する。地球上の生命の共通祖先は 100℃ 前後の高温に生育していたという有力な説が提唱されており (Islas ら, 2003 ; Di Giulio, 2003 ; Schwartzman and Lineweaver, 2004), その説を受け入れた上で、本稿での議論を進める。

2. 生物はどのようにエネルギーを得ているか

生物の生き方や進化を考える際に、その生物がどのようにエネルギーを得ているかを知ることが、基本的に重要なことである。生物は、エネルギーを得られなければ生きていけないからである。生物は種によっていくつかの異なる方法でエネルギーを得ている。生物がエネルギーを得る方法を、炭素源とエネルギー源に着目して Table 1 にまとめた。

生物の体をつくるタンパク質、DNA・RNA、脂質、糖に必要な炭素源として、無機物の二酸化炭素を使う生物と、他の生物が合成した有機物を利用する生物の 2 つに大きく分かれる。それぞれ植物と動物に対応するが、微生物の中にも植物のように二酸化炭素を利用するものと、動物のように他の生物が合成した有機物を使うものの両者が存在する。

次に外部からのエネルギー源について考える。植物のように光のエネルギーを使うものは、光合成でエネルギーを得ている。微生物の中には、植物と同じ仕組みの光合成でエネルギーを得るシアノバクテリアというグループがある。仕組みが同じであるのは、15 億年ぐらい前に、シアノバクテリアが細胞内共生して葉緑体となり、藻類や植物が生まれたためである (Dyall ら, 2004)。その光合成では、まず水から電子を取り出して、光のエネルギーを使って高いエネルギー状態にし、二酸化炭素に渡されて有機物が合成される。また、光エネルギーで高いエネルギー状態になった電子は、ATP (細胞内でエネルギーを使う時に広く用いられている分子) の合成にも使われる。この ATP も有機物の合成に必要である。なお、電子が取り出されて分解された水から、廃棄物として酸素分子が放出される。

植物やシアノバクテリアの光合成より単純な光合成としては、酸素を発生しない光合成がある。この場合、電子源として水の代わりに水素分子や硫化水素、鉄が利用される。

光のエネルギーの代わりに、無機物の酸化還元反応によってエネルギーを得る反応もある。これ

Table 1 Energy metabolism as the basis of living organisms focusing on carbon and energy sources

生き方の基本	炭素源	エネルギー源	エネルギー代謝	
			【酸素なし (嫌気)】	【酸素あり (好気)】
有機物の生産者	二酸化炭素	無機物の酸化還元	嫌気化学合成	好気化学合成
		光	水の電子を使わない光合成 (酸素非発生光合成)	水の電子を使う光合成 (酸素発生光合成)
有機物の消費者	有機物	有機物の酸化と無機物の還元	嫌気呼吸	好気呼吸
		有機物の分子内酸化還元	発酵	—

を化学合成と呼んでいる。例えば、硫化水素から電子を取り出して酸素に渡すことで生育する細菌や元素イオウ (S_0) から電子を取り出して (酸化) 別の元素イオウ (S_0) に渡す (還元) ことで ATP を合成して生育する細菌などがある (Finster, 2008)。これらの生物も、細胞内で高いエネルギーにした電子と ATP を使って二酸化炭素から有機物を合成している。

自分で有機物を作る代わりに外からの有機物を利用して生きる生物は、2種類に分けられる。酸素がある状態で (好気状態) 生きる生物と、酸素がない状態 (嫌気状態) で生きる生物である。酸素がある状態で有機物を酸化するのは、動物が行なっているのと同じ好気呼吸である。ちなみに、動物などが行なっている好気呼吸は、好気呼吸を行う細菌が 20 億年くらい前に細胞内共生してミトコンドリアになった結果である (Dyall ら, 2004)。酸素がない状態で有機物を利用するのはもっぱら微生物に限られ、発酵 (分子内で電子の授受が起こる) と嫌気呼吸 (電子を硝酸イオンや硫酸イオンなどに受け渡す) に分かれる。

3. 微生物の生育環境としての中房温泉の特徴

中房温泉は長野県安曇野市の北アルプスの燕岳の登山口にある。中房川と合戦沢の合流付近にあり、30ヶ所以上の自噴湧出口から多量の温泉水が湧き出している。湧出温度は、95℃ (中房温泉の標高約 1500m での沸点) から 60℃ 程度である。中房温泉が微生物の生育に適している条件として、微生物に電子を供給する硫化水素と有機物のもとになる二酸化炭素が十分に含まれていることがある。また pH が 8~9 の弱アルカリであることも、多くの微生物が生育しやすい環境条件である。

中房温泉では多くの微生物についての研究が行われてきたが、多くの泉源の中でも主に 2ヶ所の泉源が使われてきた (Nakagawa and Fukui, 2002; Kimura ら, 2010; Kubo ら, 2011; Otaki ら, 2012; Everroad ら, 2012; Nishihara ら, 2018a, b, c; Martinez ら, 2019; Kawai ら, 2021)。それらの位置を Fig. 2 の地図に示し、写真を Fig. 3 に示した。合戦の湯は、河原近くの岩の間から 87℃ 程度の温泉が湧出し、花崗岩が風化した荒い粒の砂地の上をほぼ水平に流れている。古事記の湯は、砂防ダムのすぐ上の河原の地下に湯貯のコンクリート升が埋められ、そこから導湯管で湯が引き出されてポンプにつながっているが、コンクリート升から漏れ出た湯が砂防ダムのコンクリートの隙間から湧出している。

合戦の湯は、大雨が続いた後などでも泉温がほとんど変化しないという特徴がある。そのため、温度と微生物の関係を研究するのに適している。古事記の湯は、大雨の後は温度が低下する傾向があるが、温度を一定期間継続的にモニターし、調査時点と微生物が生育した時点での温度がほぼ一定であることを確認した上で微生物を採取した。また、合戦の湯から約 700m、古事記の湯から約 200m の場所 (Fig. 2) に、長野県が河川管理のために設置した雨量計があり毎時間の値が即時長野県河川砂防情報ステーションのウェブページで公開されている。その記録から、温泉水温度への降雨の影響のあるなしを判断した。1週間に 100mm 以上の降雨があると古事記の湯の温度は 5℃ 以上低下し、200mm 以上の降雨があると 10℃ 以上低下する傾向が観察されたが、それぞれ 1ヶ月以内、および 2ヶ月以内で徐々に元の温度への回復が見られた。合戦の湯では大雨の後は逆に若干温度が上昇する傾向が見られたが、上昇の幅は 2℃ 以内であった。

合戦の湯の 87℃ から 45℃、古事記の湯の 80℃ から 45℃ の温泉流水中のほぼ全ての場所で、微生物が集合体になって生育している。微生物が層状に積み重なって数 mm 以上になっている集合体を微生物マット、集合体の一端が石や砂に付着して細長い束状になって流れの中に揺れ動いているものをストリーマーと呼んでいる。Figure 4a の灰色や黒や白の細い筋のようなものがストリーマーで、79℃ のものである。温泉水は左から右に流れている。Figure 4b は 59℃ の微生物マットを合戦



Fig. 2 Locations of the two study sites in Nakabusa hot spring, Nagano Prefecture

(a) 合戦の湯: 泉源87°C: 水平に近い流れ (b) 古事記の湯: 泉源80°C: 垂直に近い流れ



温度: 48°C - 87°C, 流速: 0.1 - 1200 mm/s, 硫化水素: 0 - 300 $\mu\text{mol/L}$, 酸素: 10 - 180 $\mu\text{mol/L}$

Fig. 3 Photos of the two study sites in Nakabusa hot springs

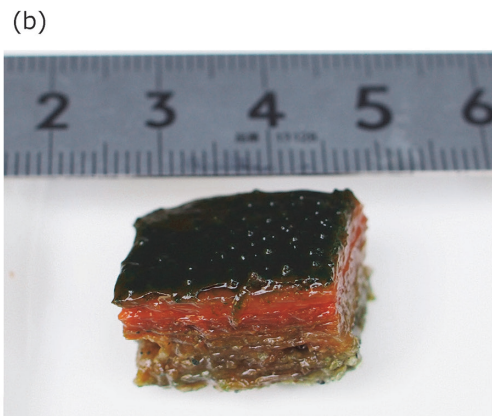
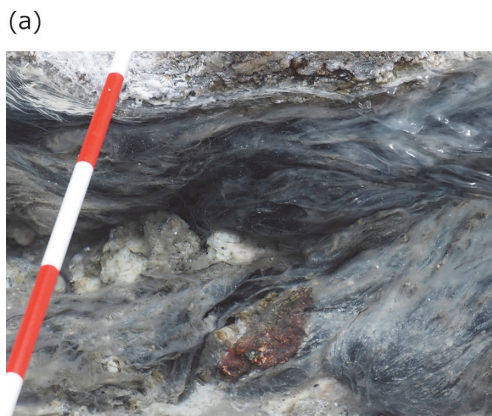


Fig. 4 Microbial streamers (a) and excised microbial mats (b) in hot spring streams. The scale bar in (a) is in units of 5 cm, and the scale number in (b) is cm.

の湯から切り出したもので、この場所では特に厚く、12mm 以上である。マットの上部表面は濃緑色であり、内部は赤色層の下に褐色層があった。なお、温度が45℃付近より低くなると、真核生物の藻類や微生物マットを食べる昆虫の幼虫などが見られるようになる。

4. 中房温泉の温度域の違いによる微生物の違いとエネルギー源

中房温泉の微生物マットやストリーマーで特徴的なことは、3つの温度域によって色が大きく異なることである。その関係を Fig. 5 に示した。90℃から70℃では、黒、灰色、白、透明、薄いベージュのストリーマーや微生物マットがあり、温度が高いほど黒っぽい傾向がある。また、温泉流水の表面に酸素がよく混ざる場所では、白い元素イオウ (S_0) の粒が含まれていることが多い。70℃から62℃では、オリーブグリーン、オレンジ、薄茶色のマットがよく生育している。激しい流れで水平状のところではストリーマーになることもある。酸素がほとんどないところではオリーブグリーン、少し酸素が多くなるとオレンジ、酸素が多くなると薄茶色となる傾向がある。62℃から45℃では、表面が濃緑色で、時には20mm を超える厚さのマットが生育している。表面の濃緑色の下は、引き続き濃緑色のこともあるが、多くはオリーブグリーン、オレンジ、赤、黄土色、褐色等、さまざまな色をしている。この温度域でストリーマーが見られることはほとんどない。

これまでの研究から、90℃から70℃では化学合成微生物 (Nakagawa and Fukui, 2002; 木村ら, 2010; Nishihara ら, 2018b)、70℃から62℃では酸素非発光合成微生物 (Kubo ら, 2011; Otaki ら, 2012)、62℃から45℃では酸素発光合成微生物 (Martinez ら, 2019; Kawai ら, 2021) が、それぞれの温度域を特徴づける微生物であることが明らかになっている。これらのいずれの微生物も、Table 1 に示したように有機物の生産者である。地中から湧出する温泉水中にはほとんど有機物が含まれていないので、微生物群集が生育するためには、まず有機物の生産者が生育する必要があることに対応していると考えられる。

これまで中房温泉の微生物については、特定の温度域を対象とした研究が多かった。広い温度域を対象とした研究では、Nakagawa and Fukui (2002) と Everroad ら (2012) があり、Fig. 5 に示したまとめとほぼ一致していた。ただし、それらの研究では、解析された種 (塩基配列から予想されたものを含む) はそれぞれ約15種および約30種であり、広い温度域にわたる微生物群集の比較を目的とした詳細な研究は行われていなかった。

著者らは2020年9月と2022年5月の2回にわたり、環境条件を広範に選定して微生物マットやストリーマーの採取を行い28種類の多様な微生物群集を得た。Figure 3の下部に示したように、温度は48℃-87℃、硫化水素濃度は0-300 $\mu\text{mol/L}$ 、酸素濃度は10-180 $\mu\text{mol/L}$ 、流速は0.1-1200 mm/s であった。温度、硫化水素濃度、酸素濃度、流速などの環境条件は、サンプリング前の1ヶ月間に



Fig. 5 Temperature division by color of microbial mats and streamers corresponding to different microbial communities

ほぼ一定であることを確認し、各条件でできるだけ均一なサンプルを採取することにより、環境条件との対応を考慮した解析を進めている。本稿ではその結果からエネルギー代謝と生物進化に関係した部分を総論的に論じ、解析と考察の詳細は別の論文として準備中である。

採取した微生物マットやストリーマーのそれぞれから DNA を抽出し、16S リボソーム RNA 遺伝子の一部分 (V4 領域, 約 253 塩基対, V4 領域は環境微生物の解析によく使われている可変領域の 1 つ) を DNA ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) で増幅し、次世代シーケンス法により網羅的に塩基配列決定を行なった。28 種類のサンプルそれぞれから得られた 4 万から 5 万の塩基配列には、同じ配列も多いが、全部で約 1000 種類の塩基配列がみられた。その中で、28 種類のうち 2 つ以上のサンプルで 0.1% 以上の割合を示したものと 1 つのサンプルで 1% 以上の割合を示したものは、合わせて 263 種類であった。この中で同じ種に由来すると推定できるものをまとめると、166 種 (未知のものを含む) となった。これらの 166 の種について、Table 1 のどのエネルギー代謝を主にしているかの推定を試みた。166 種のうち約半分は既知の種に近縁だったので、エネルギー代謝が推定できた。残りの未知種については 28 種類のサンプルの中でどの既知種と存在量の偏り (分布パターン) が似ているか、という観点から推定したが、発酵と嫌気呼吸については分布から違いを判断することが困難なのでまとめて扱った。その結果、すべての種について Table 1 のエネルギー代謝の 6 種類 (発酵と嫌気呼吸はまとめた) のいずれかに分けることができた。

Table 2 に、28 の微生物群集から 3 つの温度域で代表的な群集を選んで、10% 以上検出された生物種 (部分配列からの推定) を示した。79°C では、好気化学合成を行うサーモクリニス (*Thermocrinis ruber*) と嫌気化学合成を行うカルディミクロビウム (*Caldimicrobium rimae*) が多かった。67°C では、酸素非発光合成を行うクロロフレクサス (*Chloroflexus aggregans*) と嫌気化学合成を行うカルディミクロビウム (*Caldimicrobium thiodismutans*) が多かった。59°C では、酸素発光合成を行うシアノバクテリアのサーモシネココッカス (*Thermosynechococcus elongatus*) と酸素非発光型光合成を行うロゼイフレクサス (*Roseiflexus castenholzii*) とクロロフレクサス (*Chloroflexus aggregans*) が多かった。59°C でのロゼイフレクサスとクロロフレクサスは、有機物をシアノバクテリアから得ていて、光のエネルギーは ATP を合成するためにもっぱら使われていると考えられる (Pierson and Castenholz, 1974; Hanada ら, 1995, 2002)。Table 2 から、いずれの微生物群集においても 2 または 3 種の有機物を生産する種 (または光のエネルギーで ATP を合成する種) が群集中で多くの割合を占めることが示され、温泉中の微生物群集が単純であることを反映していると考えられる。なお、ロゼイフレクサスは、中房温泉から Hanada ら (2002) によって単離された種である。

Table 2 Microbial species present at 10% or more and their energy metabolism

各温度での構成割合 (%)			推定された微生物種	塩基配列の 相同性 (%)	分類門	エネルギー代謝
79°C	67°C	59°C				
60	0	0	<i>Thermocrinis ruber</i>	96.4	Aquificae	好気化学合成
0	0	37	<i>Thermosynechococcus elongatus</i>	100.0	Cyanobacteria	酸素発光合成
29	0	0	<i>Caldimicrobium rimae</i>	98.8	Thermodesulfobacteria	嫌気化学合成
0	28	16	<i>Chloroflexus aggregans</i>	100.0	Chloroflexi	酸素非発光合成
0	0	19	<i>Roseiflexus castenholzii</i>	100.0	Chloroflexi	酸素非発光合成
0	16	0	<i>Caldimicrobium thiodismutans</i>	100.0	Thermodesulfobacteria	嫌気化学合成

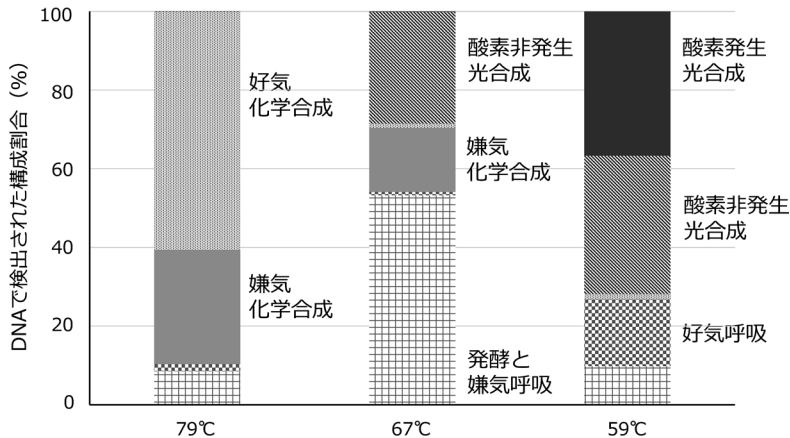


Fig. 6 Changes in microbial energy metabolism with the temperature drop

Figure 6に、解析を行なった166種すべてについて、6種類のエネルギー代謝ごとの微生物の存在割合を棒グラフで示した。好気化学合成、嫌気化学合成、酸素非発光合成、酸素発光合成については、Table 2で示した構成割合とほとんど同じであることがわかる。これは、化学合成および光合成微生物については、構成種がほぼ単一であることを表している。酸素非発光合成微生物は79℃では存在せず、酸素発光合成微生物は79℃と67℃で存在していなかった。このことは、次の節で論じるように、光合成が化学合成より後に、また酸素発光合成が酸素非発光合成より後に、地球上で生じたことを反映していると考えられた。67℃で酸素非発光合成微生物に合わせ多くの嫌気化学合成微生物が存在している結果は、実験室での培養で両者が共生して相互依存的に増殖していた結果 (Kawai ら, 2019b) とよく一致するものである。

発酵と嫌気呼吸は、79℃で8%、67℃で53%、59℃で10%といずれの群集でも存在した (Fig. 6)。このことは、有機物が供給されれば温度に関わらず、これらの嫌気性の微生物がさまざまな高温環境で生育しやすいことを示している。67℃で特に割合が高いことは、酸素非発光合成から供給される有機物が多いことと、微生物群集内部の嫌気度が高いことに起因すると考えられた。

一方、好気呼吸は、59℃で17%と多かったが、79℃で1.8%、67℃で0.9%と低い割合だった (Fig. 6)。このことは、59℃では酸素発光合成を行うシアノバクテリアが生育することで群集内部が酸素の多い条件になり、好気呼吸を行う微生物が増えたことが考えられる。ただし、79℃や67℃の高温でも少ないながら好気呼吸を行う微生物が存在したことは、次節で論じるように、シアノバクテリアによる酸素発生が始まる前から好気呼吸が存在した可能性と関係すると考えている。

5. 中房温泉の微生物生育温度域と太古代の生命のエネルギー代謝との関係

先に述べたように、現在地球上に生存する生物の最後の共通祖先は、100℃前後の高温に生育していたという仮説が広く支持されている (Islas ら, 2003; Di Giulio, 2003; Schwartzman and Lineweaver, 2004)。その仮説を受け入れると、地球の表面付近の温度はその後だんだんと低下してきたことになる。中房温泉の温度とそこに生育する微生物のエネルギー代謝の関係も、それらの考えを受け入れると説明がしやすい。また、生物の進化に伴う温度への適応は、温度が下がる方向へは比較的容易であるが、温度が上がる方向へは難しいという考えがある (Yasugi ら, 2001; Pinney ら, 2021)。タンパク質の温度安定性を下げるには1つのアミノ酸の変化でも可能であるが、

上げるには複数のアミノ酸の変化が必要だと考えられるからである (Yasugi ら, 2001; Pinney ら, 2021). この考えも本節の議論と大きく関係する. より高い温度への進化適応が難しいとすると, 高い温度で生育する微生物は, 古くから存在する微生物である可能性が高いからである.

中房温泉の高温水中の微生物群集は, エネルギー代謝の面で 3 種類に分けることができた. 今回の研究の中で一番高い温度領域は 87°C から 70°C である. そこでは化学合成が主なエネルギー代謝であった. これは, 地球の太古代においても化学合成が光合成より先に存在したことに対応すると考えられる. 次の温度域は 70°C から 62°C で, 酸素を発生しない光合成微生物であるクロロフレクサスが主な微生物である. 過去の歴史においても, クロロフレクサスに似たような性質の微生物が最初に出現した光合成生物である可能性がある (Oyaizu ら, 1987). さらに温度が低下すると, 酸素を発生する光合成を行うシアノバクテリアが生育していた. これも, 生物のエネルギー代謝として, 酸素を発生する光合成が最後に誕生したことに対応していると考えられる.

シアノバクテリアの出現で地球上に多量の酸素が発生蓄積されるようになり, 地球の環境や生物相が大きく変化した. 地質年代は, 25 億年前で太古代から原生代へ区分されている (Fig. 1, 日本地質学会, 2022). シアノバクテリアが出現したのは 27 億年前頃という可能性が指摘されているので (Rasmussen ら, 2008), 太古代の中で, 化学合成の時代から酸素を発生しない光合成の時代, さらに酸素を発生する光合成の時代が変わっていったと考えられる. 中房温泉における温度低下に沿った微生物のエネルギー代謝の変化は, 太古代の生物進化の時間軸を現代の地表を流れる温泉水の温度軸に置き換えたものと見ることができる. シアノバクテリアが出現したのは 27 億年前頃という上記の可能性 (Rasmussen ら, 2008) と, それと生物全体の共通祖先が 40 億-38 億年前に存在したらしいということ踏まえると, 酸素非発生光合成のクロロフレクサスのような微生物が出現したのは, 系統樹の解析から 35-33 億年前であるという推定が可能であると考えている.

エネルギー代謝の進化を考える時に, 具体的な電子源となる物質や電子を受け取る物質も重要である. この電子のやりとりに関しては, 周囲の環境条件に大きく依存するので, 中房温泉で得られた結果から太古代の進化を考える際は注意が必要である. 化学合成微生物としてサーモクリニス (*Thermocrinis ruber*) およびカルディミクロビウム (*Caldimicrobium rimae*) (Table 2) が中房温泉で多く見られ, それらは硫化水素と酸素, および元素イオウ (S_0) と別の元素イオウ (S_0) をそれぞれ電子源と電子を受け取る物質として使用していると考えられる. 太古代の電子源については他にも水素や二価鉄イオン (Ozaki ら, 2018) が, 電子を受け取る物質については硝酸イオンや硫酸イオンや三価鉄イオン (Archer and Vance, 2006) が想定されている. 酸素非発生光合成を行うクロロフレクサスについても, 中房温泉では主に硫化水素が電子源と考えられ (Kawai ら, 2019b), 一部微生物マットの内部で発生した水素が用いられること (Otaki ら, 2012) が示されている. 中房温泉から単離したクロロフレクサスの培養では, 純粋状態では硫化水素は良い電子源ではなく, 水素が良い電子源であることが示されている (Kawai ら, 2019a) ので, 太古代では水素の利用が硫化水素の利用より先行していた可能性も考えられる. 酸素発生光合成を行うシアノバクテリアについては, 中房温泉でも太古代でも電子源は水である.

一方, 生物の生育にはエネルギー, 炭素源, 電子に加えて, 窒素の供給も重要である. 細胞にとって重要な分子であるタンパク質, DNA, RNA 等には, 窒素が基本的に重要な構成成分として含まれている. アンモニウムイオンや硝酸イオンなどの生物が利用しやすい窒素源は, 中房温泉でも太古代でも不足しがちであったと考えられる. そのため, 空中に多量に存在する分子状窒素を利用しやすい分子に固定する必要がある. この窒素固定反応についても中房温泉で世界で初めて高温での広範な研究が行われ, 古事記の湯の 75°C の化学合成微生物マットで初めて窒素固定活性が示された (Nishihara ら, 2018a). その微生物マットには窒素固定遺伝子が含まれることがわかり (Nishihara

ら, 2018b), さらには窒素固定活性を持つ化学合成細菌 (Nishihara ら, 2018c) と発酵細菌 (Chen ら, 2021) が単離された. 窒素固定遺伝子は, 中房温泉の光合成非酸素発生微生物群集や光合成酸素発生微生物群集からも検出されており, 窒素固定が太古代からずっと生命にとって重要な反応であったことを示している.

6. エネルギー代謝の多様性と太古代の進化の中での出現順序の全体像

中房温泉での結果も踏まえ, Table 1 に示した7種類のエネルギー代謝の出現順序の仮説を Fig. 7 に描いた. 左が有機物の消費反応, 右が有機物の生産反応である. 上に論じたように生命の起源が高温であるという説を前提として, 有機物の生産反応は, 化学合成, 酸素非発生光合成, 酸素発生光合成の順であることが, 中房温泉の生育温度域の結果から推定される. 酸素非発生光合成と酸素発生光合成は, その分子的なメカニズムに共通点が多いので, 進化的に直接関係していることは疑いがない. 化学合成のうち, 酸素がない状態での嫌気的なものと酸素がある状態での好気的なものとの, いずれかが古いかは, 中房温泉での結果からはわからないが, 後に論じるように有機物消費反応からの類推で嫌気条件のものが古いと考えられる. 化学合成と光合成がどう繋がるかについては, Kawai ら (2019a) の研究で単離した酸素非発生光合成を行うクロロフレクサスが化学合成も行うことから, 直接的な関係がある可能性がある. Kawai ら (2019a) の観察した化学合成は低濃度の酸素を使うものであったが, クロロフレクサスの光合成はもっぱら嫌気条件で進むので, Fig. 7 では仮に嫌気化学合成から酸素非発生光合成へ矢印を書き入れた.

左側の有機物の消費反応は, 右側の生産反応より古いと考えている. 7種類のエネルギー代謝反応のためには, 細胞内に多くの共通するタンパク質といくつかの独自のタンパク質がある. 少ないタンパク質の反応系から多いタンパク質の反応系に並べると, 発酵, 呼吸, 化学合成, 光合成になるので, その順に出現した可能性がある. また, 化学合成微生物には, 発酵や呼吸に使われているタンパク質が多く使われているからでもある.

Figure 7 は, 一般に古くから言われてきた酸素発生光合成が生じた後に好気呼吸が生じたとする説と逆で, 先に好気呼吸があり, それは化学合成が始まるより前という順序となっている. この考えは 1990 年代から根拠をもって主張され (Castresana ら, 1994; Castresana and Saraste, 1995), またこれと関係する研究として, 光合成が始まる前の時代に地球上に微量の酸素が存在したという

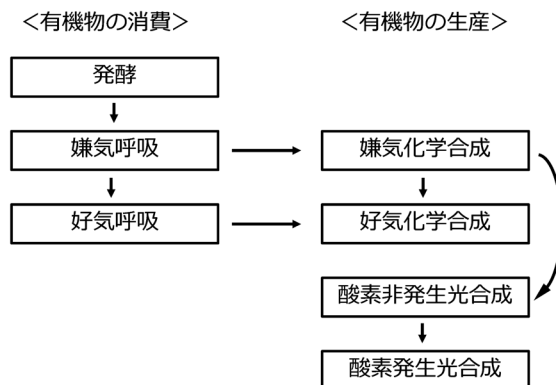


Fig. 7 Hypothesis for the order of emergence of energy metabolism in Archean organisms

研究もある (Haqq-Misra ら, 2011)。嫌気呼吸と好気呼吸の関係については、両者の成分はよく似ているが、最終的に酸素に電子を渡すタンパク質は、嫌気呼吸 (硝酸呼吸) の一成分から進化した可能性が高いという報告がある (de Vries and Schröder, 2002)。

呼吸と化学合成をつなぐ 2 つの矢印については、入り口のタンパク質が有機物由来の電子か無機物由来の電子かで異なるほかは、嫌気、好気ともほとんど同じ成分が多いので、それぞれを矢印で結んだ。また、嫌気化学合成と好気化学合成は二酸化炭素から有機物を合成する点で共通性も高いと考えられるので、両者も矢印で結んだ。

7. おわりに

太古代における生命の進化によって、我々ヒトを含めて現在の地球上に存在するすべての生物や生態系のもとが形成された。形態的多様性や細胞分化の多様性の面では、約 10 億年前以降の多細胞生物が生じた後の時代の進化が華々しい。しかし、細胞レベルの進化、特にその機能の進化は、エネルギー代謝、物質代謝、遺伝的システム等、基本は太古代にほぼ完成していたと考えられる。

太古代からの性質を維持している微生物は、現在の温泉や海底熱水鉱床に残っていると考えられ、それらの高温の微生物の研究を進めることにより、生命の誕生と初期進化に関する理解がさらに深まる。特にエネルギー代謝の進化については、多くの多様性が太古代に獲得され、現代まで維持されてきていると考えられる。近年、細胞機能やタンパク質の研究と DNA 塩基配列による系統関係の研究を組み合わせることによって、その詳細が明らかになりつつある。高い温度領域にさまざまな微生物群集が安定的に生育している中房温泉は、そのような生物進化の研究のモデルとして今後さらに重要になっていくと考えている。

謝 辞

温泉科学誌への本稿の執筆をお誘いくださった内野栄治編集委員長および編集委員の皆様、厚く御礼申し上げます。また、長年にわたって中房温泉を微生物研究に利用させてくださり、研究しやすいように多くのご配慮をしてくださっている中房温泉株式会社の百瀬孝仁社長に深く感謝いたします。

引用文献

- Archer, C. and Vance, D. (2006) : Coupled Fe and S Isotope Evidence for Archean Microbial Fe(III) and Sulfate Reduction. *Geology*, **34**, 153-156.
- Castresana, J., Lubben, M., Saraste, M. and Higgins, D.G. (1994) : Evolution of cytochrome oxidase, an enzyme older than atmospheric oxygen. *EMBO J.*, **13**, 2516-2525.
- Castresana, J. and Saraste, M. (1995) : Evolution of energetic metabolism: the respiration-early hypothesis. *Trends Biochem. Sci.*, **20**, 443-448.
- Chen, Y., Nishihara, A. and Haruta, S. (2021) : Nitrogen-fixing ability and nitrogen fixation-related genes of thermophilic fermentative bacteria in the genus *Caldicellulosiruptor*. *Microbes Environ.* **36**, 1-9.
- de Vries, S. and Schröder, I. (2002) : Comparison between the nitric oxide reductase family and its aerobic relatives, the cytochrome oxidases. *Biochem. Soc. Trans.*, **30**, 662-7.
- Di Giulio, M. (2003) : The universal ancestor and the ancestor of bacteria were hyperthermophiles. *J Mol Evol.*, **57**, 721-730.

- Dyall, S.D., Brown, M.T. and Johnson, P.J. (2004) : Ancient invasions : from endosymbionts to organelles. *Science*, **304**, 253-257.
- Everroad, R.C., Otaki, H., Matsuura, K. and Haruta, S. (2012) : Diversification of bacterial community composition along a temperature gradient at a thermal spring. *Microbes Environ.*, **27**, 374-381.
- Finster, K. (2008) : Microbiological disproportionation of inorganic sulfur compounds. *J. Sulfur Chem.*, **29**, 281-292.
- Hanada, S., Hiraishi, A., Shimada, K. and Matsuura, K. (1995) : *Chloroflexus aggregans* sp. nov., a filamentous phototrophic bacterium which forms dense cell aggregates by active gliding movement. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **45**, 676-681.
- Hanada, S., Takaichi, S., Matsuura, K. and Nakamura, K. (2002) : *Roseiflexus castenholzii* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, filamentous, photosynthetic bacterium that lacks chlorosomes. *Int J Syst Evol Microbiol.*, **52**, 187-193.
- Haqq-Misra, J., Kasting, J.F. and Lee, S. (2011) : Availability of O₂ and H₂O₂ on pre-photosynthetic Earth. *Astrobiology.*, **11**, 293-302.
- Islas, S., Velasco, A.M., Becerra, A., Delaye, L. and Lazcano, A. (2003) : Hyperthermophily and the origin and earliest evolution of life. *Int. Microbiol.*, **6**, 87-94.
- Kawai, S., Nishihara, A., Matsuura, K. and Haruta, S. (2019a) : Hydrogen-dependent autotrophic growth in phototrophic and chemolithotrophic cultures of thermophilic bacteria, *Chloroflexus aggregans* and *Chloroflexus aurantiacus*, isolated from Nakabusa hot springs. *FEMS Microbiol. Lett.*, **366**, fnz122.
- Kawai, S., Kamiya, N., Matsuura, K. and Haruta, S. (2019b) : Symbiotic growth of a thermophilic sulfide-oxidizing photoautotroph and an elemental sulfur-disproportionating chemolithoautotroph and cooperative dissimilatory oxidation of sulfide to sulfate. *Front. Microbiol.*, **10**, 1-8.
- Kawai, S., Martinez, J.N., Lichtenberg, M., Trampe, E., Köhl, M., Tank, M., Haruta, S., Nishihara, A., Hanada, S. and Thiel, V. (2021) : In-situ metatranscriptomic analyses reveal the metabolic flexibility of the thermophilic anoxygenic photosynthetic bacterium *Chloroflexus aggregans* in a hot spring cyanobacteria-dominated microbial mat. *Microorganisms*, **9**, 652.
- Kimura, H., Mori, K., Nashimoto, H., Hanada, S. and Kato, K. (2010) : In situ biomass production of a hot spring sulfur-turf microbial mat. *Microbes Environ.*, **25**, 140-143.
- Kubo, K., Knittel, K., Amann, R., Fukui, M. and Matsuura, K. (2011) : Sulfur-metabolizing bacterial populations in microbial mats of the Nakabusa hot spring, Japan. *Syst. Appl. Microbiol.*, **34**, 293-302.
- Lane, N., Allen, J.F. and Martin, W. (2010) : How did LUCA make a living chemiosmosis in the origin of life. *BioEssays* **32**, 271-280.
- Martinez, J.N., Nishihara, A., Lichtenberg, M., Trampe, E., Kawai, S., Tank, M., Köhl, M., Hanada, S. and Thiel, V. (2019) : Vertical distribution and diversity of phototrophic bacteria within a hot spring microbial mat (Nakabusa hot springs, Japan). *Microbes Environ.*, **34**, 374-387.
- Nakagawa, T. and Fukui, M. (2002) : Phylogenetic characterization of microbial mats and streamers from a Japanese alkaline hot spring with a thermal gradient. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **48**, 211-222.
- 日本地質学会 (2022) : 国際年代層序表 (国際層序委員会).

- Nishihara, A., Haruta, S., McGlynn, S.E., Thiel, V. and Matsuura, K. (2018a) : Nitrogen fixation in thermophilic chemosynthetic microbial communities depending on hydrogen, sulfate, and carbon dioxide. *Microbes Environ.*, **33**, 10-18.
- Nishihara, A., Thiel, V., Matsuura, K., McGlynn, S.E. and Haruta, S. (2018b) : Phylogenetic diversity of nitrogenase reductase genes and possible nitrogen-fixing bacteria in thermophilic chemosynthetic microbial communities in Nakabusa hot springs. *Microbes Environ.*, **33**, 357-365.
- Nishihara, A., Matsuura, K., Tank, M., McGlynn, S. E., Thiel, V. and Haruta, S. (2018c) : Nitrogenase activity in thermophilic chemolithoautotrophic bacteria in the phylum *Aquificae* isolated under nitrogen-fixing conditions from Nakabusa hot springs. *Microbes Environ.*, **33**, 394-401.
- Otaki, H., Everroad, R.C., Matsuura, K. and Haruta, S. (2012) : Production and consumption of hydrogen in hot spring microbial mats dominated by a filamentous anoxygenic photosynthetic bacterium. *Microbes Environ.*, **27**, 293-299.
- Oyaizu, H., Debrunner-Vossbrinck, B., Mandelco, L., Studier, J. A. and Woese C.R. (1987) : The green non-sulfur bacteria: a deep branching in the eubacterial line of descent. *Syst. Appl. Microbiol.*, **9**, 47-53.
- Ozaki, K., Tajika, E., Hong, P.K., Nakagawa, Y. and Reinhard, C.T. (2018) : Effects of primitive photosynthesis on earth's early climate system. *Nat. Geosci.*, **11**, 55-59.
- Pierson, B.K. and Castenholz, R.W. (1974) : A phototrophic gliding filamentous bacterium of hot springs, *Chloroflexus aurantiacus*, gen. and sp. nov. *Arch. Microbiol.* **100**, 5-24.
- Pinney, M.M., Mokhtari, D.A., Akiva, E., Yabukarski, F., Sanchez, D.M., Liang, R., Doukov, T., Martinez, T.J., Babbitt, P.C. and Herschlag, D. (2021) : Parallel molecular mechanisms for enzyme temperature adaptation. *Science*, **71**, issue 6533, DOI : 10.1126/science. aay2784.
- Rasmussen, B., Fletcher, I.R., Brocks, J.J. and Kilburn, M.R. (2008) : Reassessing the first appearance of eukaryotes and cyanobacteria. *Nature*, **455**, 1101-1104.
- Schwartzman, D. and Lineweaver, C.H. (2004) : The hyperthermophilic origin of life revisited. *Biochem. Soc. Transact.*, **32**, 168-171.
- Yasugi, M., Suzuki, T., Yamagishi, A. and Oshima, T. (2001) : Analysis of the effect of accumulation of amino acid replacements on activity of 3-isopropylmalate dehydrogenase from *Thermus thermophilus*. *Protein Eng.*, **14**, 601-607.
- Woese, C.R. and Fox, G.E. (1977) : Phylogenetic structure of the prokaryotic domain : the primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **74**, 5088-90.
- Woese, C.R., Kandler, O. and Wheelis, M.L. (1990) : Towards a natural system of organisms : Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**, 4576-4579.