

訪 問 記

温泉微生物試料の採取紀行 ～群馬県草津温泉編～

A Travelogue of Field Sampling of Hot Spring Microorganisms —Kusatsu Hot Springs, Gunma—

黒沢則夫^{1) 2)}Norio KUROSAWA^{1) 2)}

(平成 28 年 5 月 12 日受付, 平成 28 年 5 月 23 日受理)

1. はじめに

40 億年近く前に地球で最初に出現した生命体はいったいどのような生物だったのか？ 一部の進化生物学者らは、その頃の地球の環境、すなわち有機物が少なく、分子状酸素はほとんど無く、そして高温という条件に適応した独立栄養の嫌気性好熱菌であったと考えている。そのような好熱菌は、地球表面の大部分が温暖・寒冷化した現在でも、深海の熱水孔や陸上の温泉で生き続けている。われわれが分離出来る好熱菌は、長年の進化を経て多様化した、あくまでも現在の生物であり、最初の生命体そのものではないが、太古に誕生した始原細胞の特徴をうかがい知る手がかりを提供する、興味深い生物群である (Stetter, 2006; 杉森, 2010)。

われわれの研究室では、四半世紀にわたり国内外の様々な温泉に出向いて新種の好熱菌を探し続けている。それらを分類学的に正式に記載し、誰でも研究に使う事ができる微生物資源として、公的な微生物保存機関に寄託保存することが研究の目的である。今回は、ゼミ合宿を兼ねて群馬県草津温泉で実施した微生物試料採取の様子を紹介する。

2. 草津温泉における微生物

群馬県草津温泉の微生物といえば、湯畑などで観察出来る紅藻イデユコゴメ (*Cyanidium* 属) が有名であり、長島により詳しい調査・研究が行われている (長島, 1995)。イデユコゴメの他、紅藻ガルディエリア (*Galdieria* 属) や珪藻ハネケイソウの一種 (*Pinnularia* 属) などの真核藻類も生育している (長島, 1995; 高柳ら, 1986)。一方、原核生物に関する論文報告は、高柳らによる好酸性好熱性細菌 (*Bacillus* 属) の分離に関する記述 (高柳ら, 1986) 以外ほとんど見当たらないが、われわれのグループにおける過去の研究結果ならびに他の好熱菌研究者との私信により、好酸性好熱性の古細菌 (アーキア) の存在も確認されていた。

¹⁾ 創価大学理工学部共生創造理工学科極限環境微生物学研究室 〒192-8577 東京都八王子市丹木町 1-236. ¹⁾ Laboratory of Extremophiles, Department of Science and Engineering for Sustainable Innovation, Faculty of Science and Engineering, Soka University, 1-236 Tangi-machi, Hachioji, Tokyo 192-8577, Japan.

²⁾ 創価大学自然環境研究センター 〒192-8577 東京都八王子市丹木町 1-236. ²⁾ Research Center for Natural Environment, Soka University, 1-236 Tangi-machi, Hachioji, Tokyo 192-8577, Japan.

3. 微生物採取紀行

本調査は2016年4月14日から16日にかけて実施した。草津温泉における温泉水と堆積物試料の採取については、草津町役場に事前に相談し許可を受けた。

3.1 初日（4月14日）

東京都八王子市の大学キャンパスを11時頃出発し、16時頃草津温泉に到着した。小休憩後、さっそく試料採取場所の下見に出かけた。湯畑周辺と西の河原を2時間ほどかけて歩き、試料採取場所をおおまかに選定した。このような事前調査では、温泉そのものの観察はもとより、源泉へのアクセスや現場の足場の状況などもチェックする。すぐにでも温泉水を採取したい気持ちを抑えてホテルに戻った。草津温泉に来たら訪ねたいのは町中にある共同浴場である。夕食前の空き時間に、学生数名とともに「煮川の湯」に向かった。煮川の湯は、草津温泉の共同浴場の中でも湯が熱いことで知られているだけに本当に熱い（約43-45℃）。私の場合、一回に浸かっていられる時間はせいぜい10秒であった。

3.2 試料採取日当日（4月15日）

昨日の雨交じりの曇天から変わってこの日は快晴となった。朝食後ホテルで試料採取器材の準備を開始し、9時半に草津町役場に向くグループと湯畑で待機するグループとに分かれた。町役場にて温泉課職員の方と試料採取場所や作業手順などについて打合せを行った後、湯畑待機組と合流し、町役場職員の立ち会いの下、作業を開始した。最初は湯滝池（湯畑内の下流、湯滝の滝壺部分）から温泉水を採取した（図1）。採取時の泉温は46.1℃、pHは1.91であった。次に湯畑内上流源泉2箇所（図2）で温泉水と砂礫の採取を行った。泉温は一方が50.5℃、pHは1.86、他方が54.4℃、pHは1.83であった。ほぼ1時間で湯畑での作業が終了し西の河原に移動した。西の河原での作業に関しては詳述しないが、計5箇所（図3）で温泉水と堆積物を採取した。

13時半頃、予定していた作業を全て無事に終えてホテルに戻った。今回は微生物の培養に加えて、各源泉における微生物の群集構造（多様性）をDNA解析によって明らかにする実験も計画していた。この解析のために、できるだけ速やかに温泉水を濾過して微生物細胞を集め冷凍保存する必要があった。この濾過作業をホテルの部屋で夕方まで実施した。初日に続き、この日も学生とともに共同浴場「白旗の湯」と「地蔵の湯」を訪れ草津温泉を堪能した。



図1 湯滝池での試料採取



図2 湯畑源泉付近での試料採取

3.3 3日目（4月16日）

朝食後、ゼミ合宿の記念写真（図3）を撮るべく全員で湯畑に向かった。この日も快晴で気持ち



図 3 極限環境微生物学研究室メンバー (2016 年度)

後列左から：大濱、大島、梶原、黒沢 (筆者)、鈴木、黒澤
前列左から：坪井、加部、酒井、檜山、松井、栗栖、米山

の良い朝だった。昼前に草津温泉を後にし、途中休憩を挟んで 15 時頃大学に帰着した。フィールド作業が楽しい反面、ここからの実験室での作業は毎回かなり大変である。可能な限り多くの培養条件で好熱菌の分離を試みるため、集積培養のための試験管だけで 100 本以上になる。今回は今まであまり試してこなかった嫌気培養も行っているため、植菌操作に普段より時間を要し、全ての作業が終了したのは深夜となった。出発前の準備に始まり、草津温泉での共同作業、帰ってからの植菌作業など、学生らは各々の役割を確実に果たしてくれた。

4. 培養その後

実験室では、最近われわれが確立した ENFE 法 (酒井および黒沢, 2016) を用いて新種好熱菌の分離を試みている。この方法は、古典的集積培養法と分子生物学的手法を組み合わせた微生物分離法であるが、その確立にあたっては、箱根大涌谷の温泉試料が使われた。この原稿を書いている 5 月 11 日現在、複数の集積培養系列において微生物の生育が確認されている。集積培養で増えてきた微生物は、そのままでは複数種の混合培養状態となっている場合がほとんどであるので、限界希釈法やコロニーアイソレーション法などにより純粋培養を行って、ひとつひとつの微生物を単離してゆかねばならない。単離された微生物について DNA 解析を行い、新種であるか既知種であるかの大まかな判断をする。新種である可能性が高い株が得られた場合は、形態学、生理学、化学分類学的特徴などを調べ、命名し記載するという手順で研究が進められる。

5. おわりに

これまでに、国内外のさまざまな温泉において好熱菌分離のための試料採取を行ってきた。残念ながら、今回紹介したような実験を繰り返しても、単離したすべての株が既知種であることが判明

して「がっかり」する事の方が多い。そしてまた気を取り直し、希望を抱きつつ試料採取に出かける事になる。若い頃は決して好きではなかった温泉入浴も近頃では大好きになりつつあり、同僚からの「試料採取と称して温泉に行けていいねえ」などという冗談に対しても、「まあねえ」くらいの返事を返せるようになった。とはいえ無論研究が目的であるので、近い将来、今回、草津で採取した温泉試料に由来する微生物について、本誌で紹介出来るような成果をあげてゆきたい。

最後に、今回の試料採取を快くお認めいただいた群馬県吾妻郡草津町役場温泉課の中澤好一課長、ならびにわれわれの試料採取作業に終始付き添われ、サポートしていただいた同課の小寺利典様には大変感謝いたします。この紙面を借りてお礼申し上げます。

引用文献

長島秀行 (1995) : 群馬県草津温泉の微細藻類. 温泉科学, **45**, 26-30.

高柳進之輔, 杉森賢司, 千頭道子 (1986) : 酸性泉に生息する微生物の同定と分布. 東邦大学教養紀要, **18**, 33-43.

杉森賢司 (2010) : 温泉・熱水・噴気と生命. 温泉科学, **60**, 177-194.

Sakai, H.D. and Kurosawa, N. (2016) : Exploration and isolation of novel thermophiles in frozen enrichment cultures derived from a terrestrial acidic hot spring. *Extremophiles.*, **20**, 207-214.

Stetter, K.O. (2006) : Hyperthermophiles in the history of life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **361**, 1837-1843.