

**総説**

## 海洋堆積物中のホパンポリオールに関する研究\*

齋藤裕之\*\*

(2010年9月25日受付, 2010年11月25日受理)

**Abstract**

Bacteriohopanepolyols (BHPs) are pentacyclic triterpenoids synthesized by a diverse range of bacteria as cell membrane lipids. The presence of BHPs in sediments suggests in situ production of bacteria in sediments. If BHPs are more stable than previously thought, sedimentary BHP distributions might be useful for reconstruction of bacterial communities and productivity changes. Further research on BHP stabilities would shed light on the potential of BHP as life marker for deep subsurface bacteria and paleoenvironmental information.

**1. はじめに**

ホパノイドは五環式トリテルペノイド骨格を持つ化合物であり, 主にバクテリア(真正細菌)の細胞膜に由来する(Ourrisson et al., 1979)。ホパノイドは自然界の土壌, 堆積物, 石油などに普遍的に存在し, 堆積物中の有機分子で最も多いグループの1つである(Ourrisson and Albrecht, 1992)。バクテリアの生合成によるものをバイオホパノイド, その続成生成物はジオホパノイドと呼ばれている。バイオホパノイドは炭素数30のdiploptene (I; Appendix 参照), diplopterol (II)と炭素数35以上でヒドロキシル基, アミノ基, 糖など複数の官能基を持つホパンポリオール(bacteriohopanepolyols:BHPs)に分けられる。diplopteneやdiplopterolは生合成経路におけるBHPの先駆物質であり, ホパノイドを生合成する全てのバクテリアが保有する物質である(Ourrisson et al., 1987)。diplopteneやdiplopterolはシダや地衣類などの真核生物からも検出されているが, BHPの検出は報告されていない(Rohmer et al., 1984)。

BHPの研究は主にバクテリアの培養試料を用いて進められてきた(Rohmer et al., 1984; Rohmer, 1993)。ガスクロマトグラフ(GC)でBHPを分析するには, 誘導体化が必要である。BHPは官能基を複数持つため, アセチル化やトリメチルシリル化などの誘導体化をすることで分子量が大きくなり, 環境試料を用いたルーティン分析には適していなかった。その後, BHPの側鎖を開裂させ, より低分子の状態にしてGC分析を行うことが環境試料にも適用された。最近では, 側鎖を開裂させることなく, 高分子量のまま測定可能な液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)の開発により, 環境試料を用いたBHPの研究が盛んに行われるようになった。対象とされる試料は, 主に有機炭素濃度の高い現世の湖表層堆積物を用いた研究が多い(Farimmond et al. 2000; Talbot et al., 2003)。海洋堆積物中のBHP分布や続成変化についての知識は少なく, 詳細な研究はほとんどない。本報告では, 現在までのバクテリアバイオマーカーとしてのホパノイドに関する知見を紹介するとともに, 環境試料の例として南海トラフの柱状堆積物

\*Bacteriohopanepolyols in marine sediments

\*\*北海道大学創成研究機構 JAPEx 地球エネルギーフロンティア研究部門, 〒001-0021 札幌市北区北21条西10丁目  
Hiroyuki Saito: Research Division of JAPEx Earth Energy Frontier, Creative Research Institution, Hokkaido University,  
N21W10, Kita-ku, Sapporo 001-0021, Japan  
e-mail: hsaito@cris.hokudai.ac.jp

試料中の BHP 分布の特徴について述べ、BHP から得られる環境情報や起源について検討する。

## 2. バクテリアバイオマーカーとしてのホパノイド

ホパノイドは真核生物のバイオマーカーであるステロールと分子次元、両親基性という点で構造的に似ており、真核生物細胞内におけるステロールと同様な役割をバクテリア細胞内で果たしていると考えられている (Kannenberg and Poralla, 1999)。ホパノイドとステロールの骨格は、ともに酵素反応によってスクアレンが環化し生合成されるが、ステロールの生合成では遊離酵素を必要とするのに対し、ホパノイドの生合成には遊離酵素を必要としない (Ourisson et al., 1987)。しかしながら、これまでの培養実験では、偏性嫌気性バクテリアからホパノイドが検出されたことがないため (Rohmer et al., 1984; Ourisson et al., 1987)、環境試料を用いた研究では、「堆積物中に生息するバクテリアからのホパノイドの寄与はない」という仮定で進められてきた (Innes et al., 1997)。すなわち、堆積物中の BHP の起源は陸から運搬されたものや、水柱や堆積物極表層の好気的環境に生息するバクテリアに由来すると考えられてきた。しかしながら、酸素が存在する場合とない場合で代謝を切り替えることが可能な通性嫌気性バクテリアからのホパノイドの検出例は、1980 年代から報告されている (Bringer et al., 1985; Neunlist et al., 1988)。最近の培養実験から、硫酸還元菌 *Desulfovibrio*、アナモックス菌を含むプランクトミセス目、*Geobacter* 種の偏性嫌気性バクテリアからもホパノイドが検出されている (Sinninghe Damsté et al., 2004; Fisher et al., 2005; Härtner et al., 2005; Blumenberg et al., 2006)。よって、嫌気的な堆積物中に存在するバクテリアも堆積物ホパノイドの起源となり得る。

これまでにホパノイドの有無について調べられた 270 以上のバクテリア株のうち、約 57% がホパノイドを含有している (Talbot and Farrimond, 2007)。調べられたバクテリアの約 7 割はプロテオバクテリア群であり大きな偏りがあることから、Blumenberg et al. (2009) は約 57% という数字は過大評価しているのではないかと指摘している。ゲ

ノム配列が決定されているバクテリアの中で、ホパノイドの生合成に必要なスクアレン - ホパンシクラーゼ酵素を持つバクテリアは全体の 10% 以下であり、バクテリアにおけるホパノイドの必須機能について疑問視する声もある (Pearson et al., 2007)。一方で、少なくとも 11 の主要なバクテリア群については全く調べられておらず (Farrimond et al., 1998)、それらのバクテリアの中に、ホパノイドを合成するバクテリア群が存在する可能性もある。BHP による起源の特定や環境指標としての活用を考えると、どのようなバクテリア群が実際にホパノイドを生合成しているのか、今後十分に明らかにしなければならない課題である。

## 3. 海洋堆積物中のホパンポリオール

バイオホパノイドである diploptene や diplopterol は、海洋堆積物深部においてもいくつか報告されているが (例えば、Brassell et al., 1980; Elvert et al., 2001)、BHP が分析された例は少ない。四国沖南海トラフで行われた国際深海掘削計画 (ODP) において採取された海洋堆積物中の BHP 分布を示す (Fig. 1) (Saito and Suzuki, 2007a)。BHP の分析は、シリル化とアセチル化の異なる誘導体化を用いて、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) により分析した (齋藤・鈴木, 2008)。GC/MS により検出された BHP は bacteriohopanetetrol (BHT;

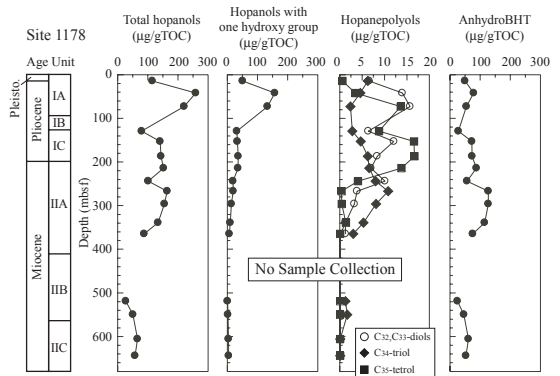


Fig. 1. Depth profiles of total hopanols, total hopanols with one hydroxy group, hopanepolyols and anhydrobacteriohopanetetrol in sediments from ODP Leg 190, Site 1178 (Saito and Suzuki, 2007a).

III) と BHP の続成生成物と考えられる hopanetriol (IV), hopanediol (V), anhydrobacteriohopanetetrol (anhydroBHT; VI) である。anhydroBHT は生合成経路における中間生成物 ribosylhopane (VII) に似た構造を示す。しかしながら, Talbot et al. (2005) は, 熱水噴出口の生物起源ケイ酸塩から検出した ribosylhopane と同分子量の化合物が, マススペクトルの違いから ribosylhopane とは異なる化合物であることを示し, 最もありそうな構造として 31-hydroxy anhydroBHT (VIII) を提案している。また, anhydroBHT が生合成中間体の場合, 未反応のまま存在する時間は非常に短いと考えられる。よって, anhydroBHT は BHP の側鎖の環化によってできるジオホパノイドであると考えられる (Fig. 2)。GC/MS では官能基が 5 個付いている bacteriohopanepentol (BHPentol; IX) や aminobacteriohopanetetrol (aminotetrol; X) まで検出可能であるが, それらは検出されていない。BHPentol と aminotetrol はそれぞれ, シアノバクテリア, メタノトロフに主に由来するので (Neunlist and Rohmer, 1985; Zhao et al., 1996), 水柱に存在するそれらのバクテリアからのホパノイドの寄与は, 本試料の南海トラフ堆積物にはほとんどないと考えられる。

堆積物中の BHP は陸から運ばれてきたものや, 水柱や堆積物極表層に生息するバクテリアに由来する可能性もある。この場合, 堆積物中の BHP 組成は, 堆積時の水柱のバクテリアコミュニティや古環境に関する情報を記録している (Talbot et al., 2007; Cooke et al., 2008; Coolen et al., 2008;

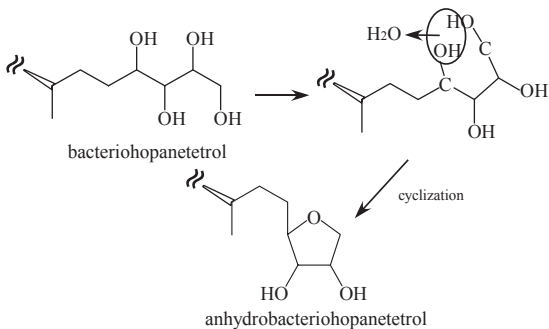


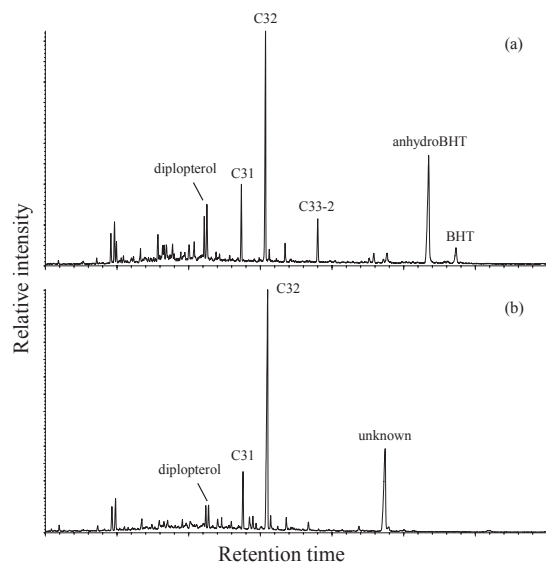
Fig. 2. Proposed synthetic pathway of anhydrobacteriohopanetetrol (Saito and Suzuki, 2008).

Blumenbeg et al., 2009)。Blumenbeg et al. (2009) は, 黒海から得た 4m の堆積物コア試料中に生息するバクテリアの存在量では実際に検出される BHP の量を説明できないことから, 効率的な輸送メカニズムのある有光層において, 当時生息していたバクテリアプランクトンが BHP の起源であると報告している。また, 全ホパノイドに占める BHP の割合が 20-70% と高いことから, BHP は急速には分解されず, 比較的安定した化合物であることを指摘している。Cooke et al. (2008) は, 土壌中の全 BHP の約 3 割を占める adenosylhopane (XI) 及び 2-methyl adenosylhopane を用いて, 海洋への土壌の流入を評価している。

BHP は細胞の死滅後, 酵素による加水分解や脱水反応により, 炭素鎖が短くなり, 官能基が消失することが知られている。この分解過程が細胞の死滅直後に起こる場合, 環境試料中から検出される BHP の存在は現在生きている, または最近まで生きていたバクテリアの指標となる可能性が高い。これまでの研究から, BHP は深度に伴い急激に減少することがわかっている (Talbot et al., 2003)。黒海における BHP の検出深度と比較すると, 南海トラフでの BHP の検出深度は海底下 340m と深く, 中新世の試料であることから地質時間も非常に長い。これらのことから, 南海トラフ深部堆積物中の BHP の存在は, 同深度で活動しているバクテリアの存在を示している可能性がある。特に BHT 濃度が高い深度 150~200m は, 主要なガスハイドレート帯であり (Saito and Suzuki, 2007b), メタンをエネルギー源とするバクテリアの存在を示唆する。現世堆積物において, バイオホパノイドからジオホパノイドへの変化は急速に進行することが報告されているが (Rohmer et al., 1980; Quirk et al., 1984; Innes et al., 1997), 具体的な分解速度については明らかにされていない。堆積物中の BHP が現在生きているバクテリアに由来しているのかどうかを明らかにするためには, 培養株を用いて, 各条件における分解速度を求めることが有効だと考えられる。

BHP の側鎖を開裂後, 分析することでさらに多くの情報を得ることができると考えられる。熊野灘沖南海トラフで行われた統合国際深海掘削計画 (IODP) において採取された試料を用いて, 過ヨウ素酸 / 水

素化ホウ素ナトリウム処理により得られるホパノールを分析した (Saito et al., 2009)。開裂前に検出される BHP は BHT だけであるが、開裂後の homohopanol (XII) と bishomohopanol (XIII) の増加は、tetrafunctionalized および pentafunctionalized バイオホパノイドが存在することを示す (Fig. 3)。tetrafunctionalized バイオホパノイドが卓越し 76~93% であり、GC/MS では検出されなかった pentafunctionalized バイオホパノイドは 7~24% であった。hexafunctionalized バイオホパノイドは検出されなかった。tetrafunctionalized バイオホパノイドの卓越は、他の海洋堆積物でも見られる共通の特徴である (Farrimond et al., 2000)。全 tetrafunctionalized バイオホパノイドに占める BHT の割合は 2 割程度であり、通常の GC/MS 条件下では検出できないバイオホパノイドが堆積物中に存在していることを示唆する。



**Fig. 3.** The  $m/z$  191 chromatograms showing the distribution of hopanols in the solvent extract of sediment from IODP Exp315, Site C0001, (a) following silylation, and (b) after periodic acid/sodium borohydride treatment then silylation. This periodic acid/sodium borohydride treatment yields hopanol, homohopanol, and bishomohopanol products from hexa-, penta-, and tetrafunctionalized bacteriohopanepolyols, respectively.

#### 4. まとめ

南海トラフでは海底下数百 m に及ぶ海洋堆積物深部に、有意量の BHP が存在する。BHP は官能基を多数持つ構造から易分解性と考えられ、同深度で活動しているバクテリアの存在を示している可能性がある。一方、従来考えられていた以上に BHP が安定な場合、堆積時の水柱のバクテリアコミュニティや古環境に関する情報を得ることができるかもしれない。これらのことを明らかにするためには、BHP の安定性を評価する必要がある。最近では、同じ環境試料についてバイオマーカー分析と遺伝子解析を行い、微生物コミュニティとそれらのバイオマーカー組成が詳細に比較されている (Coolen et al., 2008)。有機地球化学的分析と生物分子学的分析を組み合わせ、河川、水柱、海底堆積物について系統的に研究することで、堆積物中の BHP の起源や続成作用について新たな知見が得られることが期待される。

#### 謝 辞

この度は 2008 年度有機地球化学会奨励賞 (田口賞) を頂き、大変光栄に思います。本研究の遂行に当たり北海道大学大学院理学研究院、鈴木徳行教授には温かいご指導を頂き深く感謝いたします。北海道大学大学院理学研究院、沢田健講師には分析の基礎を教えていただき、また励ましを何度となくいただきました。様々な場で私の研究活動を支えていただいた全ての方々に、この場を借りて御礼申し上げます。北海道大学の山本正伸准教授および匿名の査読者には本稿の査読を通し、有益なご指摘を頂きました。記して感謝いたします。

#### 引用文献

- Brassell S.C., Comet P.A., Eglinton G., Isaacson P.J., McEvoy J., Maxwell J.R., Thomson I.D., Tibbetts P.J.C. and Volkman J.K. (1980) The origin and fate of lipids in the Japan Trench. *Phys. Chem. Earth* **12**, 375-392.
- Blumenberg M., Krüger M., Nauhaus K., Talbot H.M., Oppermann B.I., Seifert R., Pape T. and Michaelis

- W. (2006) Biosynthesis of hopanoids by sulfate-reducing bacteria (genus *Desulfovibrio*). *Environ. Microbiol.* **8**, 1220-1227.
- Blumenberg M., Seifert R., Kasten S., Bahlmann E. and Michaelis W. (2009) Euphotic zone bacterio-plankton sources major sedimentary bacterio-hopanepolyols in the Holocene Black Sea. *Geochim. Cosmochim. Acta* **73**, 750-766.
- Bringer S., Härtner T., Poralla K. and Sahn H. (1985) Influence of ethanol on the hopanoid content and the fatty acid pattern in batch and continuous cultures of *Zymomonas mobilis*. *Arch. Microbiol.* **140**, 312-316.
- Cooke M.P., Talbot H.M. and Wagner T. (2008) Tracking soil organic carbon transport to continental margin sediments using soil-specific hopanoid biomarkers: A case study from the Congo fan (ODP site 1075). *Org. Geochem.* **39**, 965-971.
- Coolen M.J.L., Talbot H.M., Abbas B.A., Ward C., Schouten S., Volkman J.K and Sinninghe Damsté J.S. (2008) Sources for sedimentary bacterio-hopanepolyols as revealed by 16S rDNA stratigraphy. *Environ. Microbiol.* **10**, 1783-1803.
- Elvert M., Whiticar M.J. and Suess E. (2001) Diploptene in varved sediments of Saanich Inlet: indicator of increasing bacterial activity under anaerobic conditions during the Holocene. *Mar. Geol.* **174**, 371-383.
- Farrimond P., Fox P.A., Innes H.E., Miskin I.P. and Head I.M. (1998) Bacterial sources of hopanoids in recent sediments: Improving our understanding of ancient hopane biomarkers, *Ancient Biomolecules* **2**, 147-166.
- Farrimond P., Head I.M. and Innes H.E. (2000) Environmental influence on the biohopanoid composition of recent sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **64**, 2985-2992.
- Fischer W.W., Summons R.E. and Pearson A. (2005) Targeted genomic detection of biosynthetic pathways: Anaerobic production of hopanoid biomarkers by a common sedimentary microbe. *Geobiology* **3**, 33-40.
- Härtner T., Straub K.L. and Kannenberg E. (2005) Occurrence of hopanoid lipids in anaerobic Geobacter species. *FEMS Microbiol. Lett.* **243**, 59-64.
- Innes H.E., Bishop A.N., Head I.M. and Farrimond P. (1997) Preservation and diagenesis of hopanoids in recent lacustrine sediments of Priest Pot, England. *Org. Geochem.* **26**, 565-576.
- Kannenberg E.L. and Poralla K. (1999) Hopanoid biosynthesis and function in bacteria. *Naturwissenschaften* **86**, 168-176.
- Neunlist S. and Rohmer M. (1985) The Hopanoids of '*Methylosinus trichosporium*': Aminobacterio-hopanetriol and Aminobacteriohopanetetrol. *J. Gen. Microbiol.* **131**, 1363-1367.
- Neunlist S., Bisseret P. and Rohmer M. (1988) The hopanoids of the purple non-sulfur bacteria *Rhodospseudomonas palustris* and *Rhodospseudomonas acidophila* and the absolute configuration of bacteriohopanetetrol. *Eur. J. Biochem.* **171**, 245-252.
- Ourisson G. and Albrecht P. (1992) Hopanoids. 1. Geohopanoids: the most abundant natural products on Earth? *Acc. Chem. Res.* **25**, 398-402.
- Ourisson G., Albrecht P. and Rohmer M. (1979) The hopanoids: paleochemistry and biochemistry of a group of natural products. *Pure Appl. Chem.* **51**, 709-729.
- Ourisson G., Rohmer M. and Poralla K. (1987) Prokaryotic hopanoids and other polyterpenoid sterol surrogates. *Ann. Rev. Microbiol.* **41**, 301-333.
- Pearson A., Flood Page S.R., Jorgenson T.L., Fischer W.W. and Higgins M.B. (2007) Novel hopanoid cyclases from the environment. *Environ. Microbiol.* **9**, 2175-2188.
- Quirk M.M., Wardroper A.M.K., Wheatley R.E. and Maxwell J.R. (1984) Extended hopanoids in peat environments. *Chem. Geol.* **43**, 25-43.
- Rohmer M. (1993) The biosynthesis of triterpenoids of the hopane series in the Eubacteria: A mine of new enzyme reactions. *Pure Appl. Chem.* **65**, 1293-1298.
- Rohmer M., Dastillung M. and Ourisson G. (1980) Hopanoids from C30 to C35 in recent muds. *Naturwissenschaften* **67**, 456-458.
- Rohmer M., Bouvier-Nave P. and Ourisson G. (1984) Distribution of hopanoid triterpenes in prokaryotes. *J. Gen. Microbiol.* **130**, 1137-50.

- Saito H. and Suzuki N. (2007a) Distributions and sources of hopanes, hopanoic acids and hopanols in Miocene to recent sediments from ODP Leg 190, Nankai Trough. *Org. Geochem.* **38**, 1715-1728.
- Saito H. and Suzuki N. (2007b) Terrestrial organic matter controlling gas hydrate formation in the Nankai Trough accretionary prism, offshore Shikoku, Japan. *J. Geochem. Explor.* **95**, 88-100.
- 齋藤裕之, 鈴木徳行 (2008) 海洋堆積物に含まれるホパノールの GC/MS による解析. *Res. Org. Geochem.* **23**, 139-146.
- Saito H. and Suzuki N. (2008) Anhydrobacteriohopanetetrol in deep subsurface sediments from Nankai Trough and Gulf of Mexico. *Proceedings of International Symposium on The Origin and Evolution of Natural History*, pp. 227-231.
- Saito H., Kaksonen A.H., Morono Y., Inagaki F. and Suzuki N. (2009) Microbial biomarkers in deep marine sediments from IODP NanTroSEIZE, Site C0001. Nankai Trough, Japan. In: *24th Internatinal Meeting on Organic Geochemistry*, Abstracts, pp. 102.
- Sinninghe Damsté J.S., Rijpstra W.I.C., Schouten S., Fuerst J.A., Jetten M.S.M. and Strous M. (2004) The occurrence of hopanoids in planctomycetes: implications for the sedimentary biomarker record. *Org. Geochem.* **35**, 561-566.
- Talbot H.M. and Farrimond P. (2007) Bacterial populations recorded in diverse sedimentary biohopanoid distributions. *Org. Geochem.* **38**, 1212-1225.
- Talbot H.M., Watson D.F., Pearson E.J. and Farrimond P. (2003) Diverse biohopanoid compositions of non-marine sediments. *Org. Geochem.* **34**, 1353-1371.
- Talbot H.M., Farrimond P., Schaeffer P. and Pancost R.D. (2005) Bacteriohopanepolyols in hydrothermal vent biogenic silicates. *Org. Geochem.* **36**, 663-672.
- Zhao N., Berova N., Nakanishi K., Rohmer M., Mougénot P. and Jurgens U.J. (1996) Structures of two bacteriohopanoids with acyclic pentol side-chains from the cyanobacterium *Nostoc* PCC 6720. *Tetrahedron* **52**, 2777-2788.

Appendix.

