

BAO001-P01

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

初期地球環境化ホルモース反応実験と中間生成物および糖の液体クロマトグラフ質量分析計による分析法の開発

Development of a LC/MS method to analyze simple sugars: an approach to investigate ribose formations on the early Earth

堀内 真愛^{1*}, 古川善博¹, 大竹翼¹, 掛川武¹

Mana Horiuchi^{1*}, Furukawa Yoshihiro¹, Otake Tsubasa¹, Kakegawa Takeshi¹

¹ 東北大学大学院理学研究科地学専攻

¹ Earth and Planetary Materials Science, G

Ribose is considered to be one of the difficult molecules to synthesize on the early Earth. Formose reactions with either boric or phosphoric acids have been reported as reactions to produce ribose. However, those reaction pathway and necessary conditions are still uncertain because analytical methods of products from the formose reaction are unavailable. Therefore, in this study, we have developed a method to analyze polymerization products of formaldehyde and their complex with borate ion using liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS). Small sugars (glyceraldehyde (C3), erythrose (C4), and D-ribose (C5)) and a complex of D-ribose and boric acid were used as representatives of polymerization products of formaldehyde. In order to increase the ionization efficiency of these samples, a mixture of chloroform and methanol was added as an ionization agent into the mobile phase between the LC and the MS. Two negative modes, electrospray ionization (ESI) and atmospheric pressure chemical ionization (APCI), were adopted for the ionization of these samples. In addition, two types of hydrophilic interaction chromatography (HILIC) columns and a ligand exchange column were used in the LC for the separation of these sugars and ribose-borate complex.

The ionization efficiencies of these sugars and ribose-borate complex were increased by adding the ionization agent in most cases. These sugars ionization modes were not determined either ESI or APCI. Among these three columns, the ligand exchange column was most effective for the separation of the sugars. However, the separation between ribose and ribose-borate complex could not achieve by the column.

Using these methods, we analyzed the polymerization products of glyceraldehyde reacted each other under highly alkaline conditions with or without sodium borate. The method was successful for the analysis of the residual glyceraldehyde. The results showed that decomposition of glyceraldehyde were more significant in the sample free from borate. This result suggests that borate ion improves the stability of glyceraldehydes. On the other hand, the peaks of other sugars were not apparent because of their low yields and the high background counts. All results indicate the usefulness of the newly developed method for studies of prebiotic ribose formation.

Keywords: LC/MS, Ribose, Formose reaction, Borate

BAO001-P02

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

中性型大気中でのアミノ酸生成の検証 Formation of Amino acids in non-reducing gas mixtures

桑原 秀治^{1*}, 栗原広成², 金子竹男², 大林由美子², 小林憲正²

Hideharu Kuwahara^{1*}, Hiroya Kurihara², Takeo Kaneko², Yumiko Obayashi², Kensei Kobayashi²

¹ 横浜国大工, ² 横浜国大理工

¹ Faculty of Eng., Yokohama Natl. Univ., ² Grad. School Eng., Yokohama Natl. Univ.

緒言: 今日では原始地球は二酸化炭素、窒素を主成分とする中性型大気をもっていたと考えられている。中性混合気体中からは放電や紫外線等のエネルギーを加えてもアミノ酸をはじめとする生体有機分子はほとんど生成しないことが報告されている。Cleavesらは中性大気から放電によりアミノ酸が生成しないのは、生成物を加水分解する際、アミノ酸が放電生成物である硝酸、亜硝酸によって酸化されたことが原因であり、酸加水分解の際に防酸化剤としてアスコルビン酸を加えることで多量のアミノ酸が得られたと報告した。しかし、検出されたアミノ酸が放電実験由来であるかどうかは不明であり、またその前駆物質も不明であった。われわれは中性型混合気体から火花放電により生成する物質を分析し、中性型大気からのアミノ酸およびその前駆体の生成の可能性を再検討した。

実験: 1対のタングステン電極を挿入した約1.6LのPyrex容器に二酸化炭素50%, 窒素50%の混合気体を600 Torr封入し、純水を40 mL加えた。これにテスラコイルを用いて火花放電を24時間行った(各1分間の放電-休止サイクルを48時間継続)。放電生成物中の硝酸イオン・カルボン酸等はキャピラリー電気泳動を用いて定量した。アミノ酸は、放電生成物を、6 M HCl中、110℃で24時間加水分解後にHPLCおよびGC/MSで定量・同定した。また、加水分解時にアスコルビン酸を加えた場合と加えない場合の比較を行った。また、中性型混合気体からは放電による α -ケト酸の生成が確認されており、 α -ケト酸であるピルビン酸と硝酸、アスコルビン酸の混合物を4日間65℃で加熱を行うことでアミノ酸が生成するか検証した。

結果と考察: 放電生成物中から主にホルムアルデヒド、アンモニア、硝酸、ギ酸が検出された。また、加水分解時にアスコルビン酸を加えた場合には、有意量のグリシン、アラニン、 β -アラニンが主に検出されたが、加えない場合には検出されなかった。ピルビン酸と硝酸、アスコルビン酸の混合物からはグリシン、アスパラギン酸、 β -アラニンが検出された。これらの結果よりアスコルビン酸の役割としては、酸化防止のほか、放電生成物との反応によりアミノ酸を与える可能性が考えられるため、¹³Cでラベルされた二酸化炭素を使用した放電実験を行うことにより、その可能性を検証する予定である。

キーワード: アミノ酸, 前生物的合成, 火花放電, 中性大気

Keywords: Amino acids, Prebiotic synthesis, Spark discharge, Neutral atmosphere

BAO001-P03

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

初期地球大気における有機物ヘイズの紫外-可視光領域光学特性と生成率 Optical properties in UV-visible regions and production rate of organic haze on early Earth

笹森 務仁^{1*}, 関根 康人², 杉田 精司³

Tsutoni Sasamori^{1*}, Yasuhito Sekine², Seiji Sugita³

¹ 東大・新領域・複雑理工, ² 東大・新領域・複雑理工, ³ 東大・新領域・複雑理工

¹ Frontier Science, Tokyo Univ, ² Dept of Complexity Science and Engineering, ³ Dept of Complexity Sci & Eng, Univ of To

恒星進化モデルによると、今から約 38 億年前、太陽光フラックスは現在の 75%ほどしかないことが示唆されており (Newman and Rood, 1977)。もし当時の地球大気組成が現在と同様の組成であった場合、地表面温度を 0 °C 以上に保つことはできないと考えられている。一方で、地球の海が当時全て凍っていたという地質的証拠はない (暗い太陽のパラドックス) (Sagan and Mullen, 1972, Schopf and Barghoorn, 1967)。したがって、初期地球が生命を育むような温暖な環境を維持するためには、何らかの強力な温室効果が働いていたことになる。

Sagan と Chyba は、現在のタイタン大気中に存在するような (McKay et al., 1991)、CH₄ の光化学反応によって生成される有機物ヘイズが、太古代の地球大気中でも生成していたと考えた (Sagan and Chyba, 1997)。このような有機物ヘイズは、大気上空で太陽紫外光を遮蔽することで、傘下の NH₃ などの強力な対流圏温室効果ガスの光分解を阻害し地表を温暖にする可能性がある (Sagan and Chyba, 1997; Wolf and Toon, 2010)。しかしながら、このようなヘイズによる紫外光遮蔽効果の有効性は、初期地球大気中で生成される有機物ヘイズの光学特性や生成率に大きく依存する。

本研究では、初期地球大気において生成されたとする有機物ヘイズの光学特性と生成率を明らかにするため、当時の地球大気的主要組成と考えられる N₂、CO₂、CH₄ (Pavlov et al., 2001) を、様々な割合で混合した気体に、紫外線を照射し模擬初期地球ヘイズを生成する実験を行なった。これら混合ガスに対しての紫外線照射によるヘイズ生成実験は、これまでいくつかの研究グループによって研究されている (Trainer et al., 2006)。しかし、これまで紫外から近赤外領域における連続的なヘイズの光学特性を測定した例はない。また、これら過去の研究は、太陽紫外光には表れない 160 nm 付近にピークを持つ重水素ランプを光源として用いている。

本研究では、121.6 nm に強いピークをもつ太陽紫外光を模擬するため、H₂/He 混合ガスのプラズマ放電による紫外光を光源として用いた。生成した有機物ヘイズは、分光エリプソメトリーを用いることで、光学定数と生成率を測定した。さらに、中間生成気体分子も四重極質量分析計を用いて調べた。本研究の結果と、過去のタイタンヘイズ (Khare et al., 1984) や初期地球ヘイズ (Hasenkopf et al., 2010) と比較を行なった結果、本研究で生成されたヘイズの紫外光域での複屈折率の虚数部 k は小さくなった。このことは、生成されたヘイズは紫外光に対して光学的厚さは薄いことを意味し、紫外線遮蔽効果も小さいことを示唆している。

参考文献: Newman and Rood, 1977. Science 198,4321; Sagan and Mullen, 1972 Science 177 52; Schopf and Barghoorn, 1967 Science 156 3774

Hasenkopf et al., 2010. Icarus 207, 903; Khare et al., 1984. Icarus 60, 127; Pavlov et al., 2001. J. Geophys. Res. 106, 23267; McKay et al., 1991. Science 253, 1118; Sagan and Chyba, 1997. Science 276, 1217; Trainer et al., 2006. PNAS 103, 18035; Wolf and Toon, 2010 Science 328, 1266.

BAO001-P04

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

宇宙ステーション曝露部での生体関連有機物の安定性の検討 Stability of Bioorganic Compounds in the Exposed Facility of the International Space Station

小野 恵介^{1*}, Palash K Sarker¹, 川本幸徳¹, 伏見英彦¹, 大林由美子¹, 金子竹男¹, 小林憲正¹, 三田肇², 山岸明彦³, たんぽ
ぽ WG⁴

Keisuke Ono^{1*}, Palash K Sarker¹, Yukinori Kawamoto¹, Hidehiko Fushimi¹, Yumiko Obayashi¹, Takeo Kaneko¹, Kensei Kobayashi¹, Hajime Mita², Akihiko Yamagishi³, Tanpopo WG⁴

¹ 横浜国立大学, ² 福岡工大, ³ 東京薬科大, ⁴ JAXA

¹ Yokohama National University, ² Fukuoka Institute of Technology, ³ Tokyo Pharmacy and Life Science, ⁴ JAXA

たんぽぽ計画(地球と宇宙空間の微生物と有機物の双方向伝播)では、地球から宇宙空間への微生物の脱出生存の可能性や生命の誕生の基礎となる有機物の宇宙空間から地球への搬入可能性を評価する。この計画の6つのサブテーマの中の2つのテーマ、「宇宙環境下での有機物変成」と「地球外有機物採集」の2つに焦点を当てて行く。「地球外有機物の宇宙変成」では、宇宙環境における有機物の生成・変成・分解を調べ、星間での有機物の化学進化と地球生命誕生との関連を実証すること、生命の地球と地球外天体との間の移動の可能性を種々の生体関連有機物および複雑有機物の安定性の観点から検討する事を目的としている。炭素質隕石や彗星中に種々の複雑有機物が検出されており、特に隕石抽出物中にはアミノ酸(前駆体)をはじめとする生体関連有機物や有機物構造体が見つかった。ところで、地球周辺で宇宙塵が受ける強い太陽紫外線(極端紫外光を含む)や宇宙線に晒されることにより元来の有機物が変成(アミノ酸の分解やラセミ化)する可能性がある。とりわけ遊離体のアミノ酸は、紫外線や放射線に対して不安定であることが知られており、どれだけ安定に地球まで供給されるのかが疑問視されている。一方、われわれは、地球外物質中に含まれるアミノ酸の多くは遊離体ではなく複雑な結合体である可能性が高いことを主張してきた。そこで、今回はアミノ酸であるイソバリンと、その前駆体である5-エチルメチルヒダントイン、そして複雑態アミノ酸前駆体のCAW(メタノール、アンモニア、水の混合物に対する照射で生成した複雑有機物)の溶液に対し、紫外線、重粒子線、 γ 線等を照射した。そして、これらのアミノ酸関連分子が宇宙線・太陽紫外線に照射された場合にどのような変性を受けるか、特にアミノ酸(前駆体)は宇宙塵環境で安定に存在しうるのか、そして地球上の生命の誕生における宇宙塵などの地球外有機物の役割を評価している。

有機物採集実験では、宇宙塵、惑星間塵に含まれて地球圏へ飛来する有機物を最適化されたエアロゲルによって採集し、地上に持ち帰り、宇宙塵中に含まれていると考えられる生体関連物質の分析をする事を目的としている。更に宇宙塵捕集材であるエアロゲルに含まれるアミノ酸コンタミネーション評価を行った。また捕集する宇宙塵は微小な物質(10~100 μ mを想定)である為、含有されるアミノ酸は非常に微量である事が予測される。そこで当研究室の各種HPLCを用いてアミノ酸特に非タンパク質アミノ酸である α -アミノ酪酸(ABA)、 α -アミノイソ酪酸(AIB)、イソバリン(Ival)をターゲットに高感度分析法の検討なども行い、今はこの来るべきTANPOPO計画に向けて、宇宙塵の捕集シミュレーション実験、宇宙からサンプルリターンした際の解析方法等を確立している最中である。

キーワード: たんぽぽ計画, アミノ酸, 宇宙塵, 宇宙線, 紫外線

Keywords: Tanpopo Mission, amino acids, space dusts, cosmic rays, ultraviolet light

BAO001-P05

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

たんぽぽ計画における蛍光染色法によるエアロゲル内の微生物検出

The microbe capture experiment in space: Fluorescence microscopic detection of microbes captured by aerogel

杉野 朋弘^{1*}, 横堀 伸一¹, Yang Yinjie¹, 河口 優子¹, 長谷川 直³, 橋本 博文³, 今井 栄一⁵, 奥平 恭子⁶, 河合 秀幸⁷, 田端 誠³, 吉村 義隆⁸, 鳴海 一成⁹, 林 宣宏¹⁰, 丸茂 克美⁴, 矢野 創³, 山下 雅道³, 小林 憲正², 山岸 明彦¹
Tomohiro Sugino^{1*}, Shin-ichi Yokobori¹, Yinjie Yang¹, Yuko Kawaguchi¹, Sunao Hasegawa³, Hirofumi Hashimoto³, Eiichi Imai⁵, Kyoko Okudaira⁶, Hideyuki Kawai⁷, Makoto Tabata³, Yoshitaka Yoshimura⁸, Issay Narumi⁹, Norihiro Hayashi¹⁰, Katsumi Marumo⁴, Hajime Yano³, Masamichi Yamashita³, Kensei Kobayashi², Akihiko Yamagishi¹

¹ 東京薬科大学, ² 横浜国立大学, ³ 宇宙航空研究開発機構, ⁴ 長岡技術科学大学, ⁵ 会津大学, ⁶ 千葉大学, ⁷ 玉川大学, ⁸ 日本原子力研究開発機構, ⁹ 東京工業大学, ¹⁰ 産業技術総合研究所

¹Tokyo Univ. Pharm. Life Sci., ²Yokohama Natl. Univ., ³JAXA, ⁴Nagaoka Univ. Tech., ⁵Univ. Aizu, ⁶Chiba Univ., ⁷Tamagawa Univ., ⁸JAERA, ⁹Tokyo Inst. Tech., ¹⁰AIST

Microbes have been collected at the altitude up to about 70 km in the sampling experiment done by several groups^[1]. We have also collected high altitude microbes, by using an airplane and balloons^{[2][3][4][5]}. We collected new deinococcal strains (*Deinococcus aetherius* and *Deinococcus aerius*) and several strains of spore-forming bacilli from stratosphere^{[2][4][5]}. On the other hand, "Panspermia" hypothesis, where terrestrial life is originated from outside of Earth, has been proposed^{[6][7]}. Recent report suggesting existence of the possible microbe fossils in the meteorite of Mars origin opened the serious debate on the possibility of migration of life embedded in meteorites (and cosmic dusts)^{[8][9]}. If we were able to find terrestrial microbes in space, it would endorse the possibility that the terrestrial life can travel between astronomical bodies.

We proposed a mission "Tanpopo: Astrobiology Exposure and Micrometeoroid Capture Experiments" to evaluate possible interplanetary migration of microbes, organic compounds and meteoroids on Japan Experimental Module of the International Space Station (ISS)^[10]. Two of six sub themes in this mission are directly related to interplanetary migration of microbes. One is the direct capturing experiment of microbes (probably within the particles of clay) in space by the exposed ultra-low density aerogel. Another is the exposure experiment to examine survivability of the microbes in harsh space environment. They will tell us the possibility of interplanetary migration of microbes (life) from Earth to outside of Earth (or vice versa).

In this report, we will report whether aerogel that have been used for the collection of space debris and cosmic dusts can be used for microbe sampling in space. We will discuss how captured particles by aerogel can be detected with DNA-specific fluorescence dye, and how to distinguish microbes from other materials (i.e. aerogel and particles such as clay). The surface of microparticles captured by aerogel is often vitrified. The non-specific fluorescent light is often observed from vitrified materials. Therefore, we need to distinguish fluorescent light of stained microbes from that of spectral characteristics of vitrified materials and bleaching rate are going to be need to distinguish stained microbes with DNA-specific fluorescence dye and other materials such as clay and aerogel. We simulated the high-speed collision of micro-particles to the aerogel with the two stage light gas gun (ca. 4 km/s). The micro-particles containing dried cells of *Deinococcus radiodurans* mixed with clay material were used for the collision experiment, and the captured particles, which was stained after collision experiment, were observed with a fluorescence microscope. This experiment suggests that the captured microbes can be detected and be distinguished from clay materials.

Reference

[1] Yang, Y. et al. (2009) Biol. Sci. Space, 23, 151-163. [2] Yang, Y., et al. (2008) Biol. Sci. Space 22:18-25. [3] Yang, Y., et al. (2008) JAXA-RR-08-001: 34-42. [4] Yang, Y., et al. (2009) Internatl. J. Syst. Evol. Bacteriol., 59: 1862-1866. [5] Yang, Y. et al. (2010) Internatl. J. Syst. Evol. Bacteriol. (in press). [6] Arrhenius, S. (1908) Worlds in the Making-the Evolution of the Universe (translation to English by H. Borns) Harper and Brothers Publishers, New York. [7] Crick, F. (1981) Life Itself. Simon & Schuster, New York. [8] Chyba, C. and C. Sagan (1992) Nature 355: 125-132. [9] Sandford, S. A., et al. (2006) Science 314: 1720-1724. [10] Yamagishi, A., et al. (2008) International Symposium on Space Technology and Science (ISTS) Web Paper Archives. 2008-k-05.

Keywords: Panspermia, Tanpopo, Astrobiology, Aerogel, fluorescence dye

BAO001-P06

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

国際宇宙ステーション上での微生物捕集実験(たんぽぽ計画); 捕集微生物の分子生物学的解析方法の確立

Microbes-capturing experiment in "Tanpopo" mission on ISS -Toward the detection of captured microbes in space by microbi

河口 優子^{1*}, 杉野朋弘¹, ヤンインジ¹, 高橋勇太¹, 吉村義隆², 辻 堯², 小林憲正³, 田端誠⁴, 橋本博文⁴, 三田肇⁵, 今井栄一⁶, 河合秀幸⁷, 奥平恭子⁸, 長谷川直⁴, 山下雅道⁴, 矢野創⁴, 横堀伸一¹, 山岸明彦¹
yuko Kawaguchi^{1*}, Tomohiro Sugino¹, Yinjie Yang¹, Yuta Takahashi¹, Yoshitaka Yoshimura², Takashi Tsuji², Kensei Kobayashi³, Makoto Tabata⁴, Hirofumi Hashimoto⁴, Hajime Mita⁵, Eiichi Imai⁶, Hideyuki Kawai⁷, Kyoko Okudaira⁸, Sunao Hasegawa⁴, Masamichi Yamashita⁴, Hajime Yano⁴, Shin-ichi Yokobori¹, Akihiko Yamagishi¹

¹ 東京薬科大学生命科学部, ² 玉川大学農学部, ³ 横浜国立大学工学部, ⁴ ISAS/JAXA, ⁵ 福岡工業大学工学部, ⁶ 長岡科学技術大学, ⁷ 千葉大学理学部, ⁸ 会津大学

¹Tokyo Uni. of Pharmacy and Life Sci., ²Fac. Agri., Tamagawa Univ, ³Sch. Eng., Yokohama Natl. Univ, ⁴ISAS/JAXA, ⁵Faculty of Engineering, Fukuoka Institut, ⁶Nagaoka University of Technology, ⁷Fac. Sci., Chiba Univ, ⁸Univ. Aizu

Terrestrial life may fly off into outer space by volcanic eruption meteorological impacts, and so on. Microbes have been collected from high altitude up to 70 km since 1936 [1]. We also isolated microbes at high altitude up to 35 km using an airplane and balloons. The two isolates of these microbes are new deinococcal species, one of which shows higher UV ray tolerance than *Deinococcus radiodurans* [2,3]. On the other hand, panspermia hypothesis for origin of life on Earth suggests that the life or precursor materials of life came from space [4,5]. But this hypothesis can be subjected to several criticisms [6,7]. If microbes were to exist at the high altitude of low earth orbit (400 km), it would endorse the possibility of interplanetary migration of terrestrial life. We proposed the "Tanpopo" mission to examine interplanetary migration of microbes and organic compounds on Japan Experimental Module (JEM) of the International Space Station (ISS) [8]. We will capture micro-particles including microbes and micro-meteoroids at the altitude of ISS orbit (400 km) with ultra low-density aerogel exposed to space for a given period of time.

After retrieving the aerogel, we will investigate captured microparticles and tracks followed by microbiological, organic chemical and mineralogical analyses. Captured particles will be analyzed after the initial curation of the aerogel and tracks. Particles potentially containing microbes will be used for PCR amplification of small subunit (SSU) rRNA gene followed by DNA sequencing. Comparison between the determined sequences and known SSU rRNA gene sequences of terrestrial organisms will suggest the origin and properties of the organism. The density of microbes at the ISS altitude might be quite low, and microbe cell number on each captured particle may be quite limited. Therefore, it is necessary to establish the effective PCR procedure for quite small amount of DNA template in the presence of other materials such as clay and aerogel. We will report current status of the PCR identification of microbes from test samples. The PCR conditions to amplify SSU rRNA gene from quite small number of cells and quite low concentration of genomic DNA with/without clay and aerogel are examined.

References.

[1] Y. Yang et al. (2009) *Biol. Sci. Space*, 23, 151-163 [2] Y. Yang et al. (2009) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59, 1862-1866 [3] Y. Yang et al. (2010) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 60, 776-779. [4] S. Arrhenius (1908) *Worlds in the Making-the Evolution of the Universe*. Harper and Brothers Publishers.[5] F. Crick (1981) *Life Itself*. Simon & Schuster. [6] Gualtieri, J. D. et al., (1977) *Icarus*, 30,234-238 [7] Davies, R., (1988) *Acta Astronautica*, 17, 129-135 [8] A. Yamagishi et al., (2007) *Biol. Sci. Space*, 21, 67-75

キーワード: アストロバイオロジー, 極限環境, パンスペルミア仮説, 基礎技術開発, 地球上生命の起源

Keywords: Astrobiology, limited environment, panspermia hypothesis, development of basic methods, origin of life on earth

BAO001-P07

会場:コンベンションホール

時間:5月23日 14:00-16:30

南極マリモの構造とその周辺土壌の化学的特徴 Chemical signature of Antarctic Marimo and Antractic soils

町田 恭祐^{1*}, 中本早紀¹, 佐藤修司¹, 原昌史¹, 金子竹男¹, 大林由美子¹, 三田肇², 小川麻里³, 吉村義隆⁴, 小林憲正¹
kyousuke machida^{1*}, Saki Nakamoto¹, Syuuji Sato¹, Masahi Hara¹, Takeo Kaneko¹, Yumiko Oobayashi¹, Hajime Mita², Mari Ogawa³, Yoshitaka Yoshimura⁴, Kensei Kobayashi¹

¹ 横浜国大, ² 福岡工業大学, ³ 安田女子大学, ⁴ 玉川大学

¹Yokohama National University, ²Fukuoka Institute of Technology Junior C, ³Yasuda Women's University, ⁴Tamagawa University

【緒言・目的】

第49次日本南極地域観測隊により採取された南極昭和基地周辺の氷、水、土壌、微生物試料を化学的、生物学的な様々な分析手法を用いて調査している。南極昭和基地周辺の露岩地帯には、大小様々の湖沼があり、それらの池の底には、藍藻、緑藻、珪藻、そしてコケといった小さな植物が生息しており、これまでに昭和基地周辺の湖沼や土壌、コケ群落などから約300種の藻類が報告されている。また、スカーレン大池では、毎年のように藍藻や緑藻、珪藻などから成る藻類のような扁平の集合体（南極マリモ）が水面近くに多数浮遊する様子が観察され、それらはやがて湖岸に打ち上げられる。これまでの研究で、南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分ではクロロフィル関連の色素の量が異なることや、異なる種類の微生物がすみ分けていることがわかっている（Ogawa et al., 2009）。また大きいものは（10cm程度）中心に空洞にガスが生じて水面近くを浮遊するようになること、内部と表面では酸化還元電位やpHが異なることが明らかになっている。（Hashida et al., 2008; Ogawa et al., 2009）。今回の実験では、南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分をアミノ酸分析、アルカリホスファターゼ活性測定、蛍光顕微鏡観察を通して特徴を調べ、マリモの生物活性を調べた。さらには、マリモ生息のスカーレン大池の土壌中や他の昭和基地周辺土壌のアミノ酸、酵素活性を比較することで、マリモと土壌の化学的な関連について考察した。

【実験】

試料：南極土壌は、2005~6の南極第47次観測隊において昭和基地周辺で採取された表面土壌（Sta.1?8）と2007~8年の49次隊によって採取された表面および表面から10cm深さの土壌（Sta.4?6）、スカーレン大池周辺の表面土壌および表面から10cm深さの土壌を使用した。南極マリモは表面の褐色の部分と中心の緑色の部分を取り、分析に供した。

アミノ酸分析：土壌試料0.1gをテフロン容器に入れ、5M HF-0.1M HClを5mL加えて密閉し、110℃で24h加熱分解した。これを加熱乾固した後 Milli-Q 水6mLで溶解し別の試験管に移し遠心乾燥した。土壌分解試料およびマリモ試料（約1mg）に6M HCl 1mLを加え、110℃で24h酸加水分解した。AG-50W-X8で脱塩・分画し、陽イオン交換HPLCでアミノ酸を測定した。

酵素活性測定法：ナス型フラスコに土壌試料2.00gを入れ、Tris-HCl緩衝液（pH 9.0）17.5mLを加え、Universal Shaker（Iwaki SHK-3）により、室温、180rpmで1時間攪拌した後、メンブランフィルター（Advantec PTFE製、孔径0.20μm）で濾過して抽出液とた。この土壌抽出液400mLに基質（0.5mM 4-メチルウンベリフェリルリン酸（MUP; pH 8.0））4mLを加え37℃で反応させ、5分ごとに蛍光強度を測定して活性（4-MU生成速度）を求めた。

蛍光顕微鏡観察：マリモの切片（1cm×1cm×1cm）にSYBR-Green（原液）をマイクロチューブに入れ、PBS緩衝溶液（pH7.0）で2500倍希釈したもの（1/2500 SYBR-Green）を滴下し、染色を行った。1時間後、別のマイクロチューブに移しPBS緩衝溶液で2~3回程度洗いこみをした後、チャンバードグラスに入れて明視野、蛍光視野で顕微鏡観察を行った（励起波長498nm、蛍光波長long pass）。また、蛍光色素を用いずに、自己蛍光の測定も行った。

【結果、考察】

南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分アミノ酸組成に大きな違いは見られなかった。今後はアミノ酸のD/L比を測定することで生物活動の活発さを数値化し、マリモの表面部分と中心部分における違いを検討していく予定である。

南極マリモの表面の褐色の部分と中心の緑色の部分に緑色の励起光を照射したところ、褐色の部分側に赤いクロロフィル蛍光が多く観察された。以前の結果と今回の結果より、南極マリモでは中心で、より多くの光合成が行われているということが事実となった。

今回SYBR-Greenによる細菌染色を顕微鏡画像イメージ化することができなかった原因として、画像処理の問題があげられる。染色法の検討とともに、感度の高い画像処理技術の開発を行う必要がある。また、生物試料を染色する際、SYBR-Greenが細胞の表面などに付着し蛍光してしまったため、細菌以外のバックグラウンド蛍光を消光する手法の開

発が必要である。さらに、1 種類の蛍光色素だけで細菌と特定するのは困難であったため、今後は、波長の違う蛍光色素を用いた多重染色使用の検討も行っていく。

土壌中のアミノ酸濃度とホスファターゼ活性は正の相関が見られ、周辺の生物活動を反映していると考えられる。今後、スカーレン大池土壌の有機組成に対する南極マリモの影響を調べていく予定である。

キーワード: 南極, 南極マリモ, 土壌, 顕微蛍光法, アミノ酸

Keywords: Antarctic, Antarctic Marimo, soil, microscopic fluorometry, amino acid