

趣旨説明：光エネルギーと光栄養

Solar energy and life: the diversity of phototrophic processes in the environments

柏山 祐一郎^{1*}, 横山 亜紀子², 宮下 英明³

KASHIYAMA, Yuichiro^{1*}, YOKOYAMA, Akiko², MIYASHITA, Hideaki³

¹立命館グローバル・イノベーション研究機構, ²筑波大学生命環境系 生命環境科学研究科, ³京都大学大学院人間・環境学研究科

¹R-GIRO, ²Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, ³Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University

地球生命の進化史は、エネルギー利用の工夫の歴史である。特に、太陽からふんだんに降り注ぐ電磁波のエネルギーを利用する仕組みの獲得は、地球の生命進化・多様化において決定的な役割を果たしている。遠紫外線から近赤外線にかけての可視光を含む電磁波が、実質的に生命が利用可能なエネルギーであり、共役系を有する分子の軌道の電子を励起することが出来る。このような有機分子、つまり色素は、ある領域の可視光を励起エネルギーとして吸収することで「色」をもたらす。しかし、色素は単に「色」をもたらすだけでなく、生命はその励起エネルギーを化学的なエネルギーに転換する仕組み（光栄養）を進化させてきた。

光栄養様式の代表的なものは、藻類や植物にみられる光合成である。光合成は、光エネルギーを利用して二酸化炭素を還元し、有機物を合成する過程である。この過程では、光励起されたクロロフィル *a* から放出された電子が「巧妙にリレー」され（電子伝達系）、膜系（チラコイド）の内外に電気化学ポテンシャル差を形成する。クロロフィル *a* には水分子から引き抜かれた電子が補填され、結果として分子酸素が発生する。膜間の電気化学的ポテンシャルを利用してアデノシン三リン酸（ATP）を合成し、結果として光エネルギーを化学結合エネルギーに転換するものである。光合成では、こうして得られた化学結合エネルギーと電子を用いて二酸化炭素を還元して有機物を合成する。

近年、現在の地球生命圏には、光エネルギーを利用する一方で二酸化炭素の還元を伴わないATP合成形態の多様性と量的な重要性が示唆されてきている。まず、クロロフィルや光化学系を利用せずに色素（レチナール）の異性化を介したプロトン輸送によって電気化学ポテンシャル差を形成する光栄養原核生物が大量に存在することが明らかになってきている。このことは、「光栄養生物」においてクロロフィルや光化学系が必要条件では無いことを意味する。また、非酸素発生型の光合成の仕組みをもついっぽうで二酸化炭素の還元を行わない生物が環境中に普遍的であり（酸素発生は「光栄養生物」の必要条件では無い）、海洋環境中にごく普通に存在することが分かってきた。また、酸素発生型光合成に限っても、従来知られていたクロロフィル *a*, *b*, *c* のほかにクロロフィル *d* やクロロフィル *f* を利用する生物も報告されてきた。これらの発見は、海洋における光栄養生物はクロロフィル *a* を基盤とする「いわゆる光合成」の枠を超えて遙かに多様である事を示唆する。

さらに、「いわゆる光合成」生物においても、従来、海洋における主な基礎生産者と見なされていた珪藻や円石藻、渦鞭毛藻の主役の座が揺らぎつつある。すなわち、近年の微生物検出法の発展やメタゲノム解析技術により、バクテリアサイズの藻類、すなわちピコシアノバクテリアや非常に多様なピコ真核藻類が、水圏環境に大量に存在することが分かってきた。環境によっては基礎生産の大半をこれらピコ藻類が担っていると考えられてきている。さらに、これらピコ藻類や上述の非クロロフィル *a* 型光栄養生物に端を発する食物連鎖は「マイクロビアルループ」に含められるものであり、そこにおける従属栄養性ないし混合栄養性のプロティストが、水圏環境では極めて重要な役割を担っていることが示された。このように、最近になってこれまでブラックボックスとして扱われてきた微細生物の実態の解明によって、海洋のエネルギーフローや物質循環を考える上で根幹をなす生物学の常識が刷新されつつある。

キーワード: 光栄養, 光合成, クロロフィル, 水圏生態系, 生物地球化学循環

Keywords: phototrophy, photosynthesis, chlorophyll, aquatic ecosystem, biogeochemical cycles

パルマ藻培養試料における脂質バイオマーカー組成の検討 Examination for lipid biomarker compositions in culture samples of Parmales.

加納 千紗都^{1*}, 沢田 健¹, 桑田 晃², 小林 まどか¹, 池田 慧¹

KANO, Chisato^{1*}, SAWADA, Ken¹, Akira Kuwata², KOBAYASHI, Madoka¹, IKEDA, Kei¹

¹ 北海道大学大学院理学院, ² 東北区水産研究所

¹ Faculty of Science, Hokkaido University, ² Tohoku National Fisheries Res. Inst.

パルマ藻は、細胞サイズが2~5 μmと微小なピコプランクトンに分類される微細藻類であり、亜寒帯域など限られた海域であるが主要な基礎生産者であることが指摘されている。また、このパルマ藻は珪質の殻をもち、新生代の海洋における重要な基礎生産者である珪藻と密接な関係をもつことが推測されている。ここで、著者の一人である桑田らの研究グループによって、2008年に、親潮域で生育するパルマ藻を単離することに成功した。本研究では、このパルマ藻の脂質バイオマーカーの組成分布を検討し、珪藻の出現および初期進化過程を解明するための知見を得たい。パルマ藻の珪質殻化石の研究例はまったく報告されていない。珪藻の珪質殻の化石は堆積岩に残されているが、それでも堆積後の続成作用によって溶解し失われることが多い。微小なパルマ藻の珪質殻は、堆積岩中に残らず出現時期の推定や生産性変動の復元がほぼ不可能であると考えてよい。そこで演者らは、パルマ藻のバイオマーカーを明らかにして、それを分子化石として利用して進化過程や生産性変動を解明しようと研究を進めている。

パルマ藻 *Triparma* sp. (*Triparma laevis*) の培養株 NIES-2565 (TOY-0807) を用いて固有の脂質バイオマーカー成分の検出を行った。その結果、パルマ藻バイオマーカーとして、多不飽和アルケンや、多不飽和脂肪酸、C27-C29 ステロイドを同定した。これらは珪藻の培養株の研究においても検出例のある化合物である。とくにステロールにおいてはC29 - シトステロールが圧倒的に卓越し、珪藻との関連が興味深い。また、未同定の高分子量の極性脂質が複数検出されている。本講演では、パルマ藻のバイオマーカー分析における予察的な研究成果をまとめ、現時点で推定されるバイオマーカーと、これら分子化石としての地球化学的特徴と化学分類指標としての潜在性について考察する。

キーワード: パルマ藻, 脂質バイオマーカー, 珪藻進化, 化学分類, 培養, ステロイド

Keywords: Parmales, lipid biomarker, evolution of diatom, chemotaxonomy, culture, steroid

葉の形態および生育環境が異なるシダ植物の光合成 Photosynthesis of fern species having different habitats and frond morphologies

西田 圭佑^{1*}, 半場 祐子¹
NISHIDA, Keisuke^{1*}, Yuko Hanba¹

¹ 京都工芸繊維大学大学院

¹ Kyoto Institute of Technology

背景

シダ植物の多くは暗く、湿度の高い場所に生育するが、ワラビや木性シダのように陽地生育するものや、非常に乾燥した環境で生育する着生シダなど、シダ植物の生育環境は非常に多彩であることが知られている。また、これらシダ植物の孢子体は種により非常に特徴のある形態を有しており、環境適応と葉の構造の関係を明らかにすることはシダ植物の進化の過程を考えるために非常に重要である。これまでのシダ植物の環境適応に関する研究では生育環境と葉の構造、あるいは光合成が別々に扱われることが多かった。しかし、孢子体の葉の構造は主に生育環境に適した光合成機能を示していると考えられ、シダ植物の適応戦略の理解のためには生育環境、葉の構造、光合成機能を統合する必要がある。本研究では生育環境、形態の異なる4種類のシダ植物を栽培し光合成機能を比較した。本研究の目的は葉の構造に着目し、シダ植物の光、水分環境に対する適応戦略を明らかにすることである。

材料と方法

陰性、地上性、落葉性のクジャクシダ (*Adiantum pedatum*)、陽地性、地上性、落葉性のワラビ (*Pteridium aquilinum*)、陰性、地上性、常緑性ベニシダ (*Dryopteris erythrosora*)、着生、常緑性のノキシノブ (*Lepisorus thunbergianus*) の孢子体を温室内で栽培した。十分な水分条件での葉面積当たりの乾燥重量 (LMA)、気孔密度、葉の水分率、葉の相対水分率、光合成ポテンシャル (V_{max} , J_{max}) を比較し、光強度に対する光合成の応答を測定した。その後、土壤乾燥ストレスをかけ、光合成反応、Rubisco 濃度を測定し、光合成速度低下の要因、乾燥ストレスに対する適応を考察した。

結果

気孔は裏面のみに存在し、ワラビは他のシダの2倍以上気孔密度が高かった。常緑性シダは落葉性シダよりも LMA の値が高かった、特に着生シダであるノキシノブは最も高い LMA を示した。ワラビ、ベニシダ、ノキシノブの光合成ポテンシャルには差がなかった。ワラビは最も高い最大光合成速度、気孔コンダクタンスを示した。

乾燥ストレスにより落葉性シダは葉を枯らしたが常緑性シダは葉を維持した。特に着生シダは葉の相対水分量 40% 以下でも葉を維持した。乾燥ストレスにより光合成速度と気孔コンダクタンスは一致して低下し、これらの間には強い相関があった。ルビスコの濃度は乾燥ストレスの影響を受けなかった。ノキシノブは乾燥ストレス時に負の蒸散量を示した。

考察

十分な水分条件下で、ワラビ、ベニシダ、ノキシノブは同程度の光合成ポテンシャルを持っていたが、最も高い光合成速度を示したのは陽地性のワラビだった。これはワラビが他のシダに比べて著しく高い気孔密度をもっているためで、気孔による CO₂ 拡散抵抗が小さいことが高い光合成速度を可能にしていると考えられる。一方で陰性のシダは高い光合成ポテンシャルを持つにもかかわらず、気孔の密度が非常に小さいために光合成速度が制限されている。陽地性のシダは光合成による光エネルギー消費量が多いという点で強光下でも生育できる一因になっていると考えられる。

乾燥ストレスによりすべてのシダ植物で光合成速度、気孔コンダクタンスは低下した。光合成速度、気孔コンダクタンスは強く相関すること、Rubisco 濃度は乾燥ストレスの影響を受けなかったことから光合成速度低下の主要因は気孔による CO₂ 拡散抵抗の上昇だと考えられる。

着生シダ、ノキシノブの葉は、葉の相対水分量 40% 以下でも枯れず、負の蒸散量を示した。このことはノキシノブが乾燥耐性 (poikilohydry) を持つことを示している。さらに、ノキシノブは LMA、葉の水分率が非常に高いことから多肉組織を持つと考えられる。このことから着生シダ、ノキシノブは多肉組織、乾燥耐性により非常に乾燥した環境で生育が可能になっていると考えられる。

キーワード: シダ植物, 光合成, 適応, 進化, 孢子体, 環境

Keywords: fern, pteridophyte, photosynthesis, adaptation, evolution, habitat

岩礁地性底生有孔虫 *Planoglabratella opercularis* の盗葉緑体の獲得機構とその機能 Acquisition of kleptoplast in *Planoglabratella opercularis* (foraminifer) and its putative function

土屋 正史^{1*}, 宮脇 省次², 力石 嘉人¹, 多米 晃裕³, 植松 勝之³, 大河内 直彦¹

TSUCHIYA, Masashi^{1*}, MIYAWAKI, Seiji², CHIKARAISHI, Yoshito¹, Akihiro Tame³, Katsuyuki Uematsu³, OHKOUCI, Naohiko¹

¹ 独立行政法人海洋研究開発機構, ² 北里大学大学院水産学研究所, ³ 株式会社マリン・ワーク・ジャパン

¹ Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, ² Graduate School of Fisheries Science, Kitasato University, ³ Marine Works Japan Ltd.

底生有孔虫には、盗葉緑体現象と呼ばれる特殊な共生様式がある。それは、宿主が外来性藻類の葉緑体を、あたかも自分のオルガネラであるかのように細胞に保持し、何らかの利益を享受することである。本研究では、盗葉緑体が底生有孔虫の代謝に不可欠であるかどうかを検証するため、岩礁地性底生有孔虫 *Planoglabratella opercularis* を用いた飼育・培養実験を行い、宿主と盗葉緑体の系統解析・盗葉緑体の超微細構造観察と自家蛍光観察およびアミノ酸の窒素同位体比に基づく栄養段階推定を行った。

1) 単系統性が支持される宿主 *P. opercularis* の盗葉緑体は、クサリ系藻綱に高い相同性 (98%) を持つ、2) 盗葉緑体は、明環境下において 11 日以内に消化されることから、頻繁に盗葉緑体を獲得する必要がある。一方、暗環境下では明環境下に比べて、盗葉緑体の自家蛍光が維持され、細胞内にも盗葉緑体の構造が維持されていた。3) クロレラ生細胞は、細胞壁の分解が困難であり、餌や盗葉緑体として取り込むことが困難である。4) 餌を添加した培養系では、餌を与えないものに比べて、盗葉緑体の自家蛍光が維持されていた。以上のことから、*P. opercularis* は、エネルギー源となりうるものを取り込むことで、積極的に盗葉緑体を維持している可能性が高い。宿主は、盗葉緑体に短期間でも葉緑体の機能を持たせ、糖やグルコースといった分解しやすい物質を作り出し、それを宿主が利用している可能性がある。このことから、宿主細胞の栄養段階は、野外個体と盗葉緑体を除去した個体との間で異なり、4) の結果からも、盗葉緑体を持つ個体は、生産者と一次消費者の中間段階の栄養段階を持つことが予想された。この作業仮説をもとに、アミノ酸の窒素同位体比に基づく栄養段階推定を行った結果、5) 野外個体は、栄養段階が 1.2 となり、生産者の値を示すのに対して、盗葉緑体を除去した個体では、栄養段階が 2.0 となり、一次捕食者の値を示した。この結果は、盗葉緑体を持つ野外個体が「植物的に」振る舞い、窒素源として盗葉緑体の光合成によって作り出されたアミノ酸を取り込んでいる可能性を示すものである。

超微細構造の観察から、*P. opercularis* の細胞質にはプラグと呼ばれる仕切りが存在し、仮足の伸展や細胞の動きに応じて細分化と平均化を繰り返しており、細胞自体の役割分担を積極的に行っていると考えられる。少なくとも 3 つの部位があり、食胞と消化物・盗葉緑体・液胞をもつ部位が認識でき、細胞は部位ごとに特殊化させており、「多細胞生物的」に振る舞っていることから、先述の栄養段階推定を当てはめると、部位ごとに栄養段階が異なる可能性がある。プラグによる細胞質の区分けは、多くの有孔虫で明らかになっているが、本解析のような体系的な観察は、はじめてのことである。単細胞生物の多細胞性は、多くの分類群で観察されているが、リザリア生物群の系統では、多細胞性を持つ生物の報告はない。有孔虫は、細胞の細分化を頻繁に行うことで、様々な機能的な特殊化を成し遂げている可能性があり、共生のメカニズムとともに、細胞の進化との関連性も興味深い。有孔虫の多細胞性は、細胞の細分化や特殊化によって成立し、機能の複雑化、大型化、環境への適応などに影響を及ぼし、有孔虫細胞の盗葉緑体を含む共生藻に対する柔軟性や、盗葉緑体による細胞内の pH 環境の変化と炭酸カルシウム骨格の形成にも影響を及ぼす可能性があり、このような細胞の特殊性が有孔虫の多様性を生み出すひとつの要因かもしれない。

キーワード: 盗葉緑体, 底生有孔虫, アミノ酸窒素同位体比

Keywords: Kleptoplast, benthic foraminifera, nitrogen isotope of amino acid

ハプト藻のアルケン・アルケノン組成における種内および種間多様性 Intra- and interspecies variations in intercellular concentrations and compositions of alkene and alkenone in Haptophyte

中村 英人^{1*}, 沢田 健¹, 白岩 善博², 鈴木 石根², 新家 弘也², 加納 千紗都¹

NAKAMURA, Hideto^{1*}, SAWADA, Ken¹, SHIRAIWA, Yoshihiro², SUZUKI, Iwane², ARAIE, Hiroya², KANOU, Chisato¹

¹ 北海道大学大学院理学研究院, ² 筑波大学生命環境科学研究科

¹ Faculty of Science, Hokkaido University, ² Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

Haptophyte algae are one of the major primary producers in the ocean. Long-chain alkenones, unsaturated linear methyl and ethyl C₃₇-C₄₀ ketones, are synthesized by few species of haptophyte algae (*Emiliana huxleyi*, *Gephylocapsa oceanica*, *Isochrysis galbana* and *Chrysothila lamellosa*). Alkenones have frequently been used for estimating the paleotemperature in geological samples, since the number of double bonds change in response to the growing temperature. Along with alkenones, these haptophyte species also produce polyunsaturated long-chain alkenes. Long-chain alkenes are more susceptible to diagenetic process (i.e. photochemical and bacterial degradations), hence are regarded less important to apply in geological past. Therefore, compositions and distributions of long-chain alkenes among its producers have not been systematically examined. Recently, algal biomass is expected to be a new energy resource. We look for the use of haptophyte algae for biorefinery, based on their high rate of reproduction, high content of long-chain lipids, and some other positive features. Alkenes gain importance in this context because of its chemical nature as hydrocarbon. In this study, we analyzed alkene and alkenones in the haptophyte algae in order to gain suite of concentration and compositional data covering wide range of Haptophyte algae.

More than 50 strains of haptophyte algae were obtained from stock culture of Shiraiwa's laboratory and the other culture collections (e.g. NIES, NCMA, RCC). These strain were grown at 17°C & 20°C for 10-21 days. Extraction and separation of lipids were performed based on Sawada and Shiraiwa (2004). After extraction, the lipids were separated by silica gel column, and fraction 1, 2 and 3 (hexane, hexane / ethyl acetate (95/5 v/v), hexane / ethyl acetate (9/1 v/v)) were analyzed by gas chromatography with flame ion detector (GC-FID) and gas chromatography / mass spectrometer (GC/MS).

Alkenes (C₂₉-C₃₈) and alkenones with alkenoates (C₃₇-C₄₀) were detected from strains of four species: *E. huxleyi*, *G. oceanica*, *I. galbana* and *C. lamellosa*. Other species lack all of these compounds. The total concentrations of alkenones and alkenes were 0.02-1.96 pg/cell (0.09-11.1 ug/ml) and 0.001-0.57 pg/cell (0.01-1.58 ug/ml), respectively. Both intercellular concentrations and compositions of these compounds showed significant differences between strains. A majority of strains mainly contain C₃₁ and C₃₃ alkenes, while some others contain C₃₇ and C₃₈ alkenes in significant proportion. Furthermore, some strains of *E. huxleyi* contained significant amount of C₂₉ alkadienes. Rieley et al. (1998, Lipids 33, 617-625) reported that C₃₇ and C₃₈ alkenes have *trans* double bonds resemble to those of C₃₇ and C₃₈ alkenones while C₃₁ and C₃₃ alkenes have *cis* double bonds, suggesting distinct biosynthetic pathway for these two groups of alkenes. However, consistent occurrence of alkenes and alkenones highlights close biochemical relationship between these two groups of compounds, as well as importance of the four alkenone producing species as potential hydrocarbon resource.

キーワード: ハプト藻, アルケノン, アルケン, バイオリファイナリー

Keywords: Haptophyte, alkenone, alkene, biorefinery

メタゲノミクスで探る東京湾沿岸の藻類・プロティスト相 Microbial eukaryotes living in the coastal marine of Tokyo bay insights from the metagenome

横山 亜紀子^{1*}, 守屋 繁春², 稲垣 佑司¹, 橋本 哲男¹, 白鳥 峻志³, 中山 剛¹, 石田 健一郎¹, 井上 勲¹
YOKOYAMA, Akiko^{1*}, Shigeharu Moriya², Yuji Inagaki¹, Tetsuo Hashimoto¹, Takashi Shiratori³, NAKAYAMA, Takeshi¹,
Kenichiro Ishida¹, INOUYE, Isao¹

¹ 筑波大学生命環境系, ² 理化学研究所・基幹研究所, ³ 筑波大学大学院生命環境科学科

¹ Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, ² Advanced Science Institute, RIKEN, ³ Graduate school of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

塩基配列決定技術の革新的な進歩は、その微細さ故に研究が遅れていたピコプランクトンの存在や多様性を白日の下に晒し、難培養性生物群での系統分類学的研究を急速かつ簡便に行うことを可能とした。さらに環境メタゲノム解析による大規模な配列取得で、これらの生物が極めて多様な環境に生育し、バイオマスとしても膨大に存在することが知られるようになってきた。したがって、マイクロビアルループ、さらには地球生態系の物質循環システムにおける、生産・消費・分解者としての、真核微生物の果たす役割は極めて重要である。しかしながら、その実体が不明、あるいは形態情報に基づく記載と系統的位置がリンクしていない生物が数多く存在するなど、真核生物の多様性の実態解明はその端緒についたばかりといっても過言ではない。ましてやその生理・生態的な情報はほとんどわかっておらず、真核微生物の生態系への影響評価のためには、まずその系統分類学的な情報に基づく実態を、正確かつ網羅的に把握する作業が必要とされている。我々の研究グループでは、生物種とオミクス情報に基づく環境物質の同時フェノタイピングによる相関解析で、水圏生態系の藻類・プロティスト複合系の生態構造解明と未知生物の分類学的解決を目指したプロジェクトを展開している。この一環として、プロジェクト研究対象地域である東京湾沿岸における真核藻類・プロティスト相の網羅的な把握のため、2010年の初夏から初冬の東京湾沿岸の環境試料を、サンガー法による18S rDNAの環境配列決定した。BLAST検索および系統解析に基づいて生物種のアノテーションを行い、同所における真核微生物相とその季節消長の解明を行った。

調査対象期間全体を通じて得られた環境配列のうち、オピストコンタ、ストラメノパイル、アルベオラータが、それぞれ約25%ずつを占め、残りがリザリア、クリプト藻、緑色植物、紅藻、カタブレファリス、テロネマ、ハプト藻などに由来した。東京湾では、初夏から秋にかけて大規模な赤潮が発生するため、ラフィド藻の*Heterosigma akashiwo*の赤潮時には、表層水では取得配列の半数以上が同藻に由来するが、数メートル下から採水した試料では繊毛虫や寄生性渦鞭毛藻類が優占するなど、実際の生物量を反映した配列が取得された。夏期には取得配列の大半が中心類珪藻由来となるが、オピストコンタの配列も数多く取得できた。その大半はメタゾアに由来し、菌類は盛夏以外ではほとんど検出されず、ツボカビ類は8月のみ大量に検出された。一方、ピコピリ藻類と完全に一致する環境配列や、MAST(MARine STRamenopile)などの海産ストラメノパイルと近縁性を示す配列も確認できた。さらにBLAST検索で既知生物と90%以下の相同性を示す環境配列が多数取得されたことは、東京湾のような普遍的水圏環境においても、新規分類群や分類学的処置の必要な真核微生物が多数存在することを強く示唆するものである。現在それらの生物の実体解明に向け、形態観察と塩基配列取得をリンクさせた研究手法の技術開発にも取り組んでいる。

キーワード: メタゲノム, 環境配列, 藻類, プロティスト, 水圏生態系

Keywords: Metagenome, Environmental sequences, Algae, Protist, aquatic ecosystem

光毒性クロロフィルを摂取するための生化学的進化戦略 Coping with toxicity of chlorophylls: a biochemical strategy

柏山 祐一郎^{1*}, 横山 亜紀子², 木下 雄介³, 宮下 英明⁴, 石川 可奈子⁵, 石川 輝⁶, 溝口 正³, 民秋 均³
KASHIYAMA, Yuichiro^{1*}, YOKOYAMA, Akiko², Yushuke Kinoshita³, MIYASHITA, Hideaki⁴, Kanako Ishikawa⁵, Akira Ishikawa⁶, Tadashi Mizoguchi³, Hitoshi Tamiaki³

¹立命館グローバル・イノベーション研究機構, ²筑波大学生命環境系 生命環境科学研究科, ³立命館大学総合理工学院, ⁴京都大学大学院人間・環境学研究科, ⁵滋賀県琵琶湖・環境科学研究センター, ⁶三重大学大学院 生物資源学研究科
¹R-GIRO, ²Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, ³Institute of Science and Engineering, Ritsumeikan University, ⁴Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University, ⁵Lake Biwa Environmental Research Institute, ⁶Graduate School of Bioresources, Mie University

クロロフィル色素は、可視光下で一重項酸素を励起させる光増感剤として振る舞い、光毒性である。しかし同時に、単純な代謝・リサイクルが困難な物質でもある（陸上高等植物に知られるような光合成生物自身によるクロロフィルの分解経路は水圏では一般的でない）。これまでの筆者らは、堆積物中のクロロフィル誘導体が構造的にきわめて多様で、それらの多くが生化学的な改変を経験している可能性を示してきた。特に、シクロフェオフォルバイド *a* エノールは、従来の分析条件下ではきわめて不安定であり、今回の改良によって初めて、湖沼ないし海洋の表層水にも有意な量が存在していることが示された。

筆者らは（１）生物培養実験に基づいて、この化合物が従属栄養性のプロティストによるクロロフィル *a* を基質とする代謝産物である事こと（２）シクロフェオフォルバイド *a* エノールは無蛍光性で、かつ他のクロロフィル誘導体のように一重項酸素発生の増感剤として全く作用しないことを見いだした。これらの事実から、シクロフェオフォルバイド *a* エノールが、従属栄養性プロティストによる光毒性回避代謝物であると結論し、また、水圏環境における一次捕食者として、これらプロティストが量的にきわめて重要であることが示唆された。本講演ではさらに、真核生物の最新の分子系統解析の情報や、シクロフェオフォルバイド *a* エノールを起源とする分子化石記録などを踏まえて、プロティストによる植食性の進化に関する議論も議論する。

キーワード: クロロフィル, プロティスト, 光毒性, クロロフィルの代謝, 一重項酸素, シクロフェオフォルバイドエノール
Keywords: chlorophyll, eukaryotic microbes, detoxification, chlorophyll catabolism

琵琶湖湖心の鉛直方向における *Acaryochloris* spp. の量的分布

Vertical distribution and abundance of *Acaryochloris* spp. at the deepest area of Lake Biwa

成田 隆造^{1*}, 大久保 智司², 石川 可奈子³, 宮下 英明²

NARITA, Ryuzo^{1*}, OHKUBO, Satoshi², Kanako Ishikawa³, MIYASHITA, Hideaki²

¹ 京都大学 総合人間学部, ² 京都大学大学院 人間・環境学研究所, ³ 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

¹Faculty of Integrated Human Studies, Kyoto University, ²Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University, ³Lake Biwa Environmental Research Institute

[背景と目的]

Acaryochloris spp. は主要色素としてクロロフィル *d* (Chl *d*) をもつ唯一の生物種であり, 可視光に加えて 700-740 nm の遠赤色光を利用した酸素発生型光合成を行うことができる。このことから *Acaryochloris* spp. が Chl *d* をもつことの生態学的意義は, 他の光合成生物が利用できない遠赤色光を利用することによってニッチを獲得できる点にあるとされてきた。これまで当研究室では, 琵琶湖湖岸より *Acaryochloris* sp. を単離したほか, 層成期の琵琶湖湖心の水深 30-60 m から *Acaryochloris* spp. の 16S rRNA 遺伝子を検出している。湖水中の遠赤色光は一般的には水深 5 m 程度までしか残存しないとされていることから, 琵琶湖湖心の *Acaryochloris* spp. が必ずしも遠赤色光を利用していない可能性が示唆された。そこで本研究では, real-time PCR を用いた *Acaryochloris* spp. 16S rRNA 遺伝子の検出・定量系を構築し, 夏期の琵琶湖湖心における浮遊 *Acaryochloris* spp. のニッチを特定し, その光環境と *Acaryochloris* spp. の光吸収から Chl *d* をもつことの優位性を明らかにすることを目的とした。

[方法と結果]

湖心観測点 N4 において深度別に採水を行い, 各 1L を濾過したサンプルから総 DNA を抽出した後, 含まれる *Acaryochloris* spp. の 16S rRNA 遺伝子のコピー数を定量した。また採水と同時に, 水中下方放射スペクトルの強度, 水温, 溶存イオン濃度, Chl *a* 濃度を深度別に計測した。

その結果, 層成期における *Acaryochloris* spp. の分布の極大は, 湖心のクロロフィル極大よりやや深く, 温度躍層よりやや浅い水深 10-20 m 及び深水層の 40-50 m の 2 つの異なる深度に検出された。水深 10-30 m 以深には波長 450-600 nm の青緑色光が優勢していた。また, *in vivo* 吸収・励起スペクトルから, *Acaryochloris* sp. が Chl *a* を利用する藻類には効率的に利用することができない 450 nm 付近の光を Chl *d* によって吸収し, 利用することがわかった。

以上のことから Chl *d* は, 琵琶湖の浮遊性 *Acaryochloris* spp. が Chl *a* 含有生物が利用できない 450 nm 付近の青-青緑色光を吸収・利用することによってニッチを獲得することに優位に働いていると考えられた。

一方, 分布深度の異なる *Acaryochloris* spp. は, 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を用いた比較では同一種であったものの, ITS 領域の塩基配列には大きな違いが見られた。栄養塩濃度の異なる温度躍層上方及び深水層にそれぞれの環境に適応した生態型が存在することは, 海産シアノバクテリア *Prochlorococcus* sp. において知られており, 琵琶湖の *Acaryochloris* spp. においても光感受性及び栄養塩要求性の異なる生態型が存在することが示唆された。

キーワード: *Acaryochloris* spp., クロロフィル *d*, 鉛直分布, リアルタイム PCR, 琵琶湖

Keywords: *Acaryochloris* spp., chlorophyll *d*, vertical distribution, real time PCR, Lake Biwa