

2B01

(Invited)

海洋性微細藻類の増殖を制御する微量元素セレン

○新家弘也^{1,2}

(¹筑波大学生命環境系、²JST・CREST)

セレンは、酸素や硫黄と同族元素であり、特に硫黄と物理化学的性質がよく似ている。そのため、高濃度のセレンが存在すると含硫化合物中の硫黄と無作為に置換し、その分子の機能を阻害することにより、強い毒性を示すことが知られている。生体内でセレンは、硫黄代謝系を利用して代謝されることが陸上植物の研究から分かっている。一方で、コドンにコードされた、システインのセレン態であるセレノシステインを酵素の活性中心に配置したセレン含有タンパク質（セレノプロテイン）に利用される特徴も持つ。このセレノプロテインの活性維持にセレンの高い還元力が必須とされるため、我々ヒトも含めた多くの生物にとって、セレンは生体必須微量元素のひとつとなっている。

現在まで50種類以上のセレノプロテインがバクテリア、古細菌や真核生物で発見されており、ヒトでは25種のセレノプロテインが発見されている（Kryukov et al., 2003）。微細藻類の場合、ゲノム解析より緑藻*Chlamydomonas reinhardtii*、プラシノ藻*Ostreococcus tauri*、褐藻*Aureococcus anophagefferens*、珪藻*Thalassiosira pseudonana*やハプト藻*Emiliana huxleyi* から40種類以上のセレノプロテインが報告されているが、実際にセレノプロテインを同定した報告は少ない（Novoselov et al., 2002, Lobanov et al., 2007, Read et al., 2013）。我々は、海洋性単細胞藻類である円石藻*Emiliana huxleyi*より2種(EhSEP1とEhSEP2)のセレノプロテインを同定、更に4種(EhSEP3～EhSEP6)のセレノプロテインの存在を見出した（Obata and Shiraiwa, 2005, Araie et al., 2008）。同定したセレノプロテインは、EhSEP1が哺乳類と相同性の高いチオレドキシニンレダクターゼ、EhSEP2が新規のプロテインジスルフィドイソメラーゼ様セレノプロテインであった。これまで、一部の微細藻類でセレノプロテインの有無が、数多くの海洋性微細藻類で生育に対するセレンの要求性が知られていたが、我々の発見により海洋性微細藻類におけるセレンの重要性が更に明確になった。

海洋性微細藻類がセレンを利用するためには、外部の環境中からセレンを細胞内に取り込むことが必要不可欠である。実際の海洋中における全無機セレン（セレン酸: SeO_4^{2-} と亜セレン酸: SeO_3^{2-} ）の濃度は約1 nM前後と極めて低い。この事は、海洋性微細藻類がセレンを利用するため、特別な取り込み機構を利用していることが考えられる。海洋性微細藻類では、セレン酸ではなく亜セレン酸が増殖の増加に有効なセレン源であることが知られており、円石藻*E. huxleyi*でも同様である（Danbara and Shiraiwa, 1999）。そこで、放射性 $^{75}\text{SeO}_3^{2-}$ を用いたセレン吸収機構の速度論的解析を行い、細胞外から細胞内へのセレンの輸送を調べた。その結果、ミカエリス-メンテン型を示す高親和型のATP依存的可動輸送の存在を明らかにした（Araie et al., 2011）。では、細胞内に取り込まれたセレンはどのように代謝されるのだろうか。陸上植物ではセレン要求性が認められておらず、その解毒機構についての報告が多数ある。解毒機構では、無毒化したメチル化セ

レノシステイン等で蓄積する機構や揮発物質であるセレン化ジメチル等へと代謝することで毒性を回避する機構の2つが知られている (Sors et al., 2005)。そこで、*E. huxleyi* に $^{75}\text{SeO}_3^{2-}$ を基質として与え、その代謝中間体を ^{75}Se でラベルした後、細胞内成分を低分子、脂質、タンパク、多糖・核酸の4種に分画し解析した。その結果、70%の ^{75}Se が低分子画分に、17%がタンパク質画分に含まれており、主な蓄積形態であった低分子画分中には、Seの無毒な形態で知られるメチル化セレノシステインが含まれていた。また、 ^{75}Se -パルス-チェイス実験により、 ^{75}Se ラベル低分子画分からタンパク質画分への ^{75}Se の移行が明確に確認された。これは、*E. huxleyi*が低分子セレン含有化合物を貯蔵物質として利用し、セレンの機能態であるセレノプロテインにセレンを供給していることを意味する (Araie and Shiraiwa, 2009)。この様に我々の研究より、*E. huxleyi*がセレンを陸上植物に特有のセレン無毒化蓄積機構と、動物等に特有なセレノプロテイン合成機構を併せた代謝系で利用していることが初めて明らかとなった。

海洋性微細藻類がセレン要求性を示す原因についてはまだ不明である。しかし、我々の研究により海洋性微細藻類がセレンをどのように利用しているのかということが垣間見えたのではないだろうか。このようなセレン利用の性質は、海洋におけるセレン供給の変動が特定の微細藻類の増殖を制御する可能性を強く示唆する。今後解析が進み、海洋における微量元素の動態と海洋性微細藻類の増殖の関係に関する研究の今後の発展が期待される。

The trace element selenium regulates growth of marine microalgae

○H. Araie^{1,2} (¹Faculty of Life and Environmental Sciences, Univ. of Tsukuba, ²CREST, JST)

2B02

南極スカルブスネス露岩地域に分布する湖沼の堆積物のバイオマーカーに記録された古環境・古生態系変動

竹田真佑美¹、○沢田 健¹、高野淑識²

(¹北海道大学理学院、² 海洋研究開発機構)

南極は、年間を通して低温であり極夜・白夜があるように日射量の変動が大きく、地球上で最も過酷な環境の一つであり、生物活動は著しく制限されている。南極大陸では、南極半島の北部を除いて陸上高等植物は存在せず、藍藻や緑藻などの藻類や蘚類、地衣類などが主要な生物である。このような極限環境での生物の環境変化に対する応答や生理、さらに生態系の挙動を理解することは重要である。そこで本研究では、南極湖沼の堆積物の脂質バイオマーカー分析と顕微鏡観察から、過去数千年間の環境変動を復元することと、極限環境の生態系や生物の挙動を理解することを目的として研究を行った。南極スカルブスネス露岩地域に分布する淡水湖の長池、塩湖のすりばち池および舟底池という異なる特徴を持つ湖の堆積物を分析に用いた。各々の堆積物コアの最深部の年代は、約 2800~3800 年前である。それらの堆積物の脂質分析を行い、炭化水素・ケトン・脂肪酸・ステロールの組成を比較し、顕微鏡観察のデータと併せて考察した。

顕微鏡観察やバイオマーカー分析の結果、スカルブスネスの淡水湖と塩湖では生物種が異なり、長池では、水生蘚類に加えて藍藻や緑藻、珪藻、塩湖では珪藻が主な生産者であることがわかった。また、珪藻に由来する高分枝鎖イソプレノイド(HBI)アルケンは海水の流入を経験した湖から検出され、淡水湖の長池からは検出されない。ハプト藻に由来するアルケノンはすべての湖で検出され、各々の湖でその組成の違いがみられた。これまでの南極でのアルケノン検出は塩湖においてのみ報告されており、海水の流入がない淡水湖である長池でのアルケノン検出は、起源生物を考える上でも重要である。長池のハプト藻は海洋からブリザードや波しぶきなどによって供給され、湖水の低塩分環境でも成長できる *Isochrysis* 属が繁栄したのではないかと推察した。さらに、イソプレノイドチオフエンが検出され、過去の湖において硫酸還元環境が広がっていたことが示唆される。そのチオフエンが高濃度で検出される層準は生産性が高い層準と一致している。南極周辺の海洋では、珪藻が主な生産者であり、ハプト藻は繁栄することができずアルケノンは検出されないことが知られる。しかし、湖という半閉鎖的な環境では、湖水の塩分などが変化して好都合な条件がそろった結果、珪藻の競争関係から解放されたハプト藻が繁栄したと考えられる。これは、すりばち池で見られるアルケノンと HBI アルケンの濃度の逆相関から説明できる。さらに、すりばち池で HBI アルケンの濃度が高くなる層準は、乾燥化などの気候変化によって湖水の蒸発が進み高塩分化したことによって珪藻が繁栄したことを示している可能性がある。このように、バイオマーカーに記録された生態系変動は、温暖/寒冷化といった南極大陸の気候変化に連動していることが推察できる。

Variations in paleoenvironment and paleoecosystem recorded by biomarkers in sediments of lakes on the Skarvsnes, Antarctica

*M. Takeda¹, K. Sawada¹, Y. Takano² (¹Hokkaido Univ., ²JAMSTEC)

2B03

ハプト藻イソクリシス科 *Tisochrysis* および *Isochrysis* のアルケノン組成の化学分類学的特徴

○中村英人^{1,3}、沢田健^{1,3}、新家弘也^{2,3}、鈴木石根^{2,3}、白岩善博^{2,3}
(¹北大理学研究院、²筑波大生命環境系、³JST CREST)

ハプト藻イソクリシス目 (Isochrysidaceae) が合成する長鎖アルケノンの不飽和度 (U_{37}^K , U_{37}^K) は海洋表層水温の指標として広く応用されている。アルケノンを生産するイソクリシス目は、大きく Noelaerhabdaceae と Isochrysidaceae の2科に分けられ、前者に属する *Emiliania* と *Gephyrocapsa* は海洋の主なアルケノン生産者として知られる。Isochrysidaceae は近年、内陸塩湖や淡水湖で見出されるアルケノン生産種を含むグループとして着目されており、*Isochrysis*、*Chrysotila*、*Pseudoisochrysis* からアルケノンが検出されている。Isochrysidaceae の培養株は4不飽和アルケノン ($C_{37:4}$) の卓越や C_{40} アルケノンの含有、 C_{38} メチルアルケノンの欠如など、海洋の生産種とは異なる特徴を示す。さらに、Isochrysidaceae のアルケノン組成には種 (株) ごとに顕著な多様性がみられる (Marlowe et al., 1984)。本研究では、ハプト藻 Isochrysidaceae のアルケノン組成と系統の関係を明らかにするため、*Isochrysis* として記載された培養株7株について、PCR法により LSU rDNA 塩基配列を決定して分子系統解析を行い、これらの株のアルケノン組成を比較した。CCMP1323については、10~25°C におけるアルケノン不飽和度-水温換算式を求めた。

分子系統解析の結果、培養株のうち4株が *Tisochrysis* (新属; Bendif et al., 2013) に、3株が *Isochrysis* に分類された。*Tisochrysis* の株は、4不飽和アルケノンをもほとんど持たない点が共通していた。一方で、*Isochrysis* のうち2株は4不飽和アルケノンをも顕著に含み ($37:4\% > 5$)、2不飽和アルケノンの割合が少なかった。これらの特徴は先行研究のデータを加えても調和的であり、*Tisochrysis* と *Isochrysis* をよく区別する化学分類学的特徴である可能性が示唆された。*Isochrysis* に分類された CCMP1611 株は4不飽和の卓越を示さなかったが、アルケンジオンを含む点で他の株とは異なっていた。*Isochrysis galbana* CCMP1323 の U_{37}^K の水温に対する感度 (検量線の傾き) は著しく低く、先行研究 (Versteegh et al., 2001) と調和的であったが、4不飽和アルケノンを含めた U_{37}^K -水温換算式はより高感度であり、既報の温度換算式のうち *Isochrysis galbana* CCMP715 (*Pseudoisochrysis paradoxa* として報告; Theroux et al., 2013) に最も近かった。Isochrysidaceae の検量線の属レベルの比較は予察的段階だが、より多くの株で系統との関連性が確かめられれば湖沼堆積物におけるアルケノン古水温計の応用の高精度化に繋がると期待される。

Chemotaxonomic significance of alkenone compositions in the genus *Tisochrysis* and *Isochrysis* (Isochrysidaceae)

*H. Nakamura^{1,3}, K. Sawada^{1,3}, H. Araie^{2,3}, I. Suzuki^{2,3}, Y. Shiraiwa^{2,3}

(¹Faculty of Science, Hokkaido Univ., ²Faculty of Life and Environmental Sciences, Univ. Tsukuba, ³JST CREST)

2B04

白亜系双葉層群の炭質物濃集層から産出した炭化および非炭化植物化石の抵抗性高分子分析：植物化石の化学分類

○宮田遊磨¹、沢田健¹、中村英人¹、高橋正道²

(¹北海道大学・理学院、²新潟大学・理・自然科学)

【はじめに】陸上高等植物は細胞壁のセルロースに加え、外的要因に対する防御壁としてクチンやスベリン、リグニンといった特殊な抵抗性高分子(Resistant macromolecule)を発達させてきた。これらの抵抗性高分子はその構造や構成するモノマーの組成が植物の種類や器官、成長段階などによって異なり、続成作用によっても特徴的に変化することが知られている。また、生物・化学的に安定で微生物分解や続成作用に抵抗性を持ち、植物化石や植物由来ケロジェンなどの主要成分であると考えられている。このような抵抗性高分子の結合態脂質の組成を用いた化学分類や古植生評価などの研究が行われてきたが、古い地質時代の堆積物に応用した例は少ない。本研究では、白亜紀の炭質物濃集層から産出した様々な植物組織の化石を用いアルカリ加水分解性脂質を分析し、古代堆積物中における抵抗性高分子の保存過程やその構成分子組成による化学分類を検討した。

【試料と方法】試料は白亜紀コニアシアンの上葉層群芦沢層から産出した小型化石を用いた。芦沢層に含まれる小型化石はほとんどが堆積前に炭化したものが河川の氾濫原などに堆積したものであるが、なかには褐色を呈する非炭化の植物片(褐炭 Lignite)も含まれる。分析には炭化化石と非炭化化石の両方を用いた。中村・沢田(2007)に従い遊離態成分を抽出後、残渣を高温 reflux 抽出処理し、さらにその残渣を KOH/メタノールでアルカリ加水分解を行った。分解抽出された成分を GC/MS で分析・定量した。

【結果と考察】アルカリ加水分解によって解離されたエステル結合態アルキル脂質ユニットとして、すべての植物化石試料から強い偶数炭素優位性を示す *n*-脂肪酸、*n*-アルカノール、 α 、 ω -ジカルボン酸を検出した。これら解離されたアルキル脂質成分の組成は遊離態成分(溶媒抽出成分)と大きく異なり、解離されたアルキル脂質はクチンやスベリンなどの生体ポリエステルが脱重合したモノマーであることが示された。一方、一部の非炭化試料からは典型的なクチン酸であるヒドロキシ酸が顕著に検出され、白亜紀のような古代堆積物においても生体が持つクチン酸がよく保存されることがわかった。これは白亜紀の化石・堆積物からのクチン酸のはじめての検出例である。さらに、エステル結合態のアルキル脂質組成、特に ω 、 x -C₁₆ ジヒドロキシ酸の異性体組成などは現生の植物を使った研究とも調和的であり、白亜紀の植物化石においても強力な化学分類指標として応用可能であることが立証された。炭化化石からはクチン酸は検出されなかったが、*n*-脂肪酸、*n*-アルカノールの組成からも化学分類的な情報が得られることを指摘する。

Resistant macromolecular analysis of carbonized and lignitic plant fossils from carbonaceous matter-concentrated layer of the Cretaceous Futaba Group, Japan: paleochemotaxonomy of plant fossil

*Y. Miyata¹, K. Sawada¹, H. Nakamura¹, M. Takahashi² (¹ Hokkaido Univ., ²Niigata Univ.)