

2A01 (Invited)

熱水噴出孔下に存在する生命圏の限界

○柳川勝紀^{1,2}、井尻暁²、Anja Breuker³、酒井早苗²、三好陽子¹、川口慎介²、野口拓郎⁴、平井美穂²、Axel Schippers³、石橋純一郎¹、高木善弘²、布浦拓郎²、高井研²

(¹九州大、²海洋研究開発機構、³ドイツ連邦地球科学天然資源研究所、⁴高知大)

深海熱水噴出孔では、周辺深層水には存在しない（超）好熱性微生物が高温熱水から見つかる。それらは海底下に存在する活動的な超好熱菌の巣から運び出されてきたものと期待されている。この「熱水孔下生命圏」へ直接的なアプローチを試みるべく、2010年9月の統合国際深海掘削計画第331次航海(IODP Expedition 331)で、中部沖縄トラフ伊平屋北熱水活動域の掘削調査が行われた。

熱水噴出孔より1.6 km離れた掘削地点 Site C0017 は、海底熱水循環に伴って、海水が表層堆積物に染み込んでいく場であると推定されている。実際に、掘削で得られたコア試料から、浸透海水の主要流路と思しき粗粒な軽石層が半遠洋性堆積物に挟まれる形で発見された。軽石層を除く試料では、通常海底堆積物中で頻出する未培養性アーキアが優占していた。一方、軽石層には marine group I *Thaumarchaeota* という海洋性アーキアが特徴的な微生物群集であった。軽石層を通過する海水由来の酸化的な環境が、これらの優占を促したと考えられる。また、深度150 mでは90度近い高温環境が形成されており、そこでは、Hot Water Crenarchaeotic Group IV (HWCGIV) という未培養の好熱性アーキアが検出された。HWCGIV は高温熱水環境からこれまでに多くの報告があり、熱水孔下生命圏の主要なメンバーかもしれない。

熱水噴出孔より450 mほど離れた掘削地点 Site C0014 では、海底下50 mで200度超の高温環境が形成されていた。ここでは、掘削コア試料の鉱物組成、間隙水の化学分析から、水平方向の熱水移流が想定される。微生物の生息限界は海底下16 mまでであり、それより浅層において嫌氣的メタン酸化を始めとする微生物代謝が確認できた。生命圏最深部では、Site C0017の結果と同様、HWCGIVの優占が見られる一方で、既知の超好熱菌は検出されなかった。この環境は当時50度未満であったと推定され、生命の温度限界にはほど遠かった。しかし、熱水変質を受けた粘土鉱物の酸素同位体比分析から、過去には106-198度まで上昇していたことが示された。これらのことは、熱水孔下のハビタブルゾーンは、過去の熱水活動による制約からの回復に時間を要することを意味している。

Habitable limits for microbial life beneath a sediment-hosted deep-sea hydrothermal field.

*K. Yanagawa^{1,2}, A. Ijiri², A. Breuker³, S. Sakai², Y. Miyoshi¹, S. Kawagucci², T. Noguchi⁴, M. Hirai², A. Schippers³, J. Ishibashi¹, Y. Takaki², Takuro Nunoura², and Ken Takai² (¹Kyushu Univ., ²JAMSTEC, ³BGR, ⁴Kochi Univ.)

2A02

アラニンの室温における圧力誘起ペプチド化

○藤本千賀子¹、篠崎彩子²、三村耕一²、西田民人²、後藤弘匡³、
小松一生¹、鍵裕之¹

(¹東大・院理、²名大・院環境、³東大・物性研)

はじめに

惑星表層での衝突現象や熱水噴出口を模した衝撃圧縮実験や高温高压実験から、アミノ酸からのペプチド生成が報告されている。これらの実験では、重合反応には圧力と温度の両方が寄与しており、圧力のみによる圧力誘起反応はこれまで着目されてこなかった。そこで、本研究ではアラニンに室温(25 °C)で圧力のみを加え、圧力誘起重合反応の観察を試みた。

実験方法

加圧実験は物性研の 500 トンプレス「CAPRICORN」に対向型ダブルトロイダルアンビルを装着して行った。アンビルとガスケットはアセトンならびに Milli-Q 水で十分に洗浄した。試料はアラニン粉末をガスケットに充填し、圧力媒体としてアラニンの飽和水溶液を加えたものを用いた。試料に室温条件で 5 GPa、7 GPa、9 GPa、11 GPa の圧力を加え、1 時間保持した。常圧に減圧後、試料を回収し、内部標準として既知量のノルバリンを加え、誘導体化した後、GC-MS でアラニンの二量体と三量体を同定および定量した。

結果と考察

試料に加えた圧力に対する生成したアラニン二量体、三量体の割合を下図に示す。二量体の生成は 5 GPa から確認された。三量体は 9 GPa 以上の圧力を加えた試料から検出された。本研究により、従来では重合反応が起こらないとされていた室温条件で、アラニンの圧力誘起重合反応が起こることが明らかになった。アラニンは室温 15 GPa でアモルファス化することが知られているが、大気圧から今回の実験での最高圧力である 11 GPa までは相転移はない(Funnell et al., 2011)。また、ペプチド化が最も進んだ 11 GPa の条件においても、その生成率は 10^{-3} のオーダーで、大部分のアラニンは未反応であった。これらのことから、11 GPa における平均分子間距離は、ペプチド化がおこる閾値を越えておらず、分子振動や結晶内の欠陥などで部分的に分子間距離が短くなったことで重合反応が起きたと推測される。また、重合が観察された 5 GPa 以上の圧力条件では、水は氷 VII 相として存在する。本研究の結果は、氷惑星内部でのアミノ酸の化学進化の可能性を示唆している。

(Fujimoto et al., DOI: 10.1039/C5CC03665H)

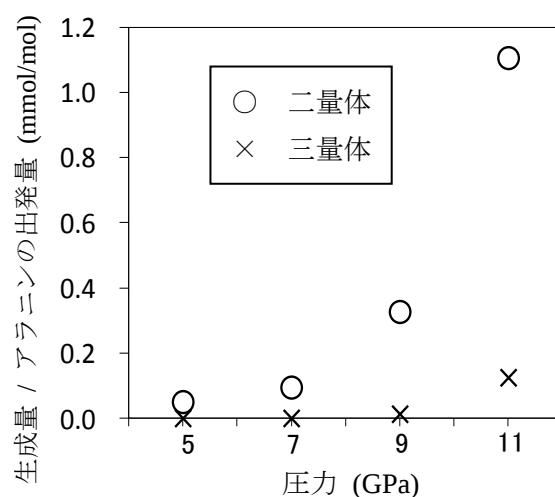


図. 圧力と生成したペプチドの量比

Pressure-induced oligomerization of alanine at room temperature

*C. Fujimoto¹, A. Shinozaki², K. Mimura², T. Nishida², H. Gotou³, K. Komatsu¹ and H. Kagi¹
(¹Grad. School Sci., Univ. Tokyo, ²Grad. School Env., Nagoya Univ., ³ISSP, Univ. Tokyo)

2A03

メタン生成古細菌を培養し微生物起源メタンが呈する炭素・水素安定同位体比の特徴を明らかにした上でこれを文献値と比較したところ一致しなかった

○川口慎介¹・奥村知世¹²・齊藤弥生¹³・松井洋平¹・高井研¹・井町寛之¹

(¹海洋研究開発機構 ²JSPS ³長岡技術科学大学)

メタンは、(1)温室効果気体であるため気候変動と密接に関わる、(2)酸素との反応によって膨大なエネルギーを生じるため人類にとって重要な燃料資源である、(3)化学合成微生物活動の基質・生成物であるため現在の地球上の極限環境・始原地球環境・他天体における生物活動の指標となる、(4)もっとも単純な有機物であるため生物誕生以前の化学進化を担う物質である、といった特徴を有する。このため、この世に存在する各メタンリザーバーについて、メタンの起源をより確かに把握することを目的に、様々な研究が行われている。

安定同位体比は、こうした起源を推定する研究において極めて有効な指標であり、地球化学研究における基盤技術として成熟してきた。しかし「単に指標の示す数値のみから起源について議論することは、メタンの起源推定を誤る」[1]、「安定同位体組成を地球化学指標として用いるには、適切な素過程研究によってその指標性の基盤(同位体分別の機構やその支配要因)が十分に把握できていることが不可欠である。それを抜きにした安定同位体指標の濫用は、誤った理解を導いてしまう」[2]ことに十分留意すべきである。実際、安定同位体比を用いたメタンの起源推定研究の「羅針盤」[3]は素過程理解に立脚していない。

我々の先行研究では、メタン生成古細菌がエネルギー源として利用する水素ガスの安定同位体比が生成するメタンの水素安定同位体比に影響することを確認し、微生物起源メタンの水素同位体システムatics理解を再考する必要性を指摘した[4]。しかし同研究は1種のメタン菌のみを対象とし、地球上では稀な非常に高い水素ガス分圧を培地に与え、水素同位体比のみを対象とする、極めて限定的な条件でえられた知見であった。そこで本研究では、3種のメタン菌を対象に、2つの水素ガス分圧条件下で、炭素・水素の両安定同位体比を分析することで、「微生物メタンが呈する炭素・水素安定同位体比の特徴」を調査した。この結果は、先述の「羅針盤」および最近提唱されている多重置換同位体組成[5, 6]の解釈とは一致しなかった。

[1]川口・土岐, 2010, 地球化学 [2]川口, 2015, 地球化学 [3]Whiticar, 1999, Chem. Geol. [4]Kawagucci et al., 2014, GCA [5]Stolper et al., 2015, GCA [6]Wang et al., 2015, Science

An incubation examination for hydrogen and carbon isotope systematics among H₂O-H₂-CO₂-CH₄ during hydrogenotrophic methanogens growth at high and low H₂ levels

Kawagucci, S.¹, T. Okumura¹², Y. Saito¹³, Y. Matsui¹, K. Takai¹, and H. Imachi¹

¹JAMSTEC ²JSPS ³Nagaoka University of Technology

2A04

南部マリアナ前弧で発見されたシロウリガイ群集を支える化学エネルギーの起源

○大西雄二¹、松本航輝¹、山中寿朗²、池原実²、小原泰彦³

(¹岡山大院自然、²高知大海洋コア、³海上保安庁海洋情報部)

2010年に南部マリアナ前弧の海溝に続く水深約5600mの斜面にシロウリガイを主とする化学合成生物群集が発見され、その一帯は Shinkai Seep Field (SSF) と名付けられた。SSFは、これまでに化学合成生物群集が知られている熱水噴出孔やメタン湧出域と全く異なるテクトニックな背景を持っており、マントルかんらん岩の蛇紋岩化反応に伴って発生する水素やメタンによって微生物硫酸還元が行われ、そこで発生する硫化水素を利用して硫黄酸化細菌が一次生産を行っていると考えられている。しかし、実際にこの群集を支えているエネルギー源に関する地球化学環境の解明は行われていない。よって、本研究ではSSFのシロウリガイ群集を支える化学エネルギーの起源を、安定同位体地球化学的手法を用いて検討することを目的とした。

分析試料はJAMSTEC所属の有人潜水調査船「しんかい6500」の潜航調査によってYK13-08航海で採取されたシロウリガイ (*Calymene mariana*)、堆積物、炭酸塩チムニーである。生物試料は軟組織のC、N、S同位体組成を、殻についてXRD分析と炭酸カルシウムのC、O同位体組成を分析し、堆積物は全有機炭素(TOC)、全窒素(TN)、酸揮発性硫化物(AVS)濃度およびそれらの同位体組成の測定を行った。チムニーは、炭酸塩と有機炭素の $\delta^{13}\text{C}$ 値をそれぞれ測定した。

シロウリガイ軟組織の $\delta^{13}\text{C}$ 値は-34.4から-32.9‰であり、この値はシロウリガイに典型的な値の範囲($\delta^{13}\text{C} = -35 \pm 5\text{‰}$)であった。また、軟組織の $\delta^{34}\text{S}$ 値は-11.1から-8.2‰であり、堆積物中のAVSが持つ $\delta^{34}\text{S}$ 値(-18.6から-9.2‰)とほぼ等しい結果であった。AVSの低い $\delta^{34}\text{S}$ 値は、シロウリガイの生育を支える硫化水素が堆積物中の硫酸還元細菌の活動に由来するものであることを示している。

この貝殻のXRD解析の結果、殻はほぼアラゴナイトで構成されていた。殻の $\delta^{18}\text{O}$ 値は通常、生息温度を反映するが、算出された水温は6~8℃と実際の水温(2~3℃)より有意に高く、これは冷湧水系に生息するシロウリガイの特徴と一致する。また、チムニー炭酸塩の $\delta^{13}\text{C}$ 値は最大で+20‰を超える値を持ち、このSSFで湧出する流体には二酸化炭素還元によるメタンが含まれている可能性が考えられる。

Shinkai Seep Fieldは堆積層が薄く、硫酸還元細菌の電子供与体が堆積物中有機物とは考えにくく、マントルかんらん岩の蛇紋岩化作用による水素やメタンを用いていると考えられる。メタンが一次エネルギー源として生態系を支えるメタン湧水のような蛇紋岩海山などの冷湧水系と同様であるといえる。

Evaluation of chemical energy source for *Calymene* inhabited in southern Mariana Forearc

*Y. Onishi¹, K. Matsumoto¹, T. Yamanaka¹, M. Ikahara², and Y. Ohara³ (¹Okayama Univ.,

²Kochi Univ., ³Japan Coast Guard)

2A05

第一奄美海丘の周辺に生息するシンカイヒバリガイの炭素・窒素・硫黄の同位体組成

○雨宮柚衣¹、田中健太郎¹、Yama Tomonaga²、白井厚太郎¹、石田章純¹、鹿児島渉悟¹、佐野有司¹

(¹ 東京大学大気海洋研、²ETH, Switzerland)

1. はじめに

2014 年に行われた調査航海において、第一奄美海丘周辺海域に熱水活動の兆候が見られ、ドレッジによってシンカイヒバリガイ属の二枚貝が回収された。シンカイヒバリガイのような化学合成細菌を共生させる種は、利用するエネルギー源となるメタンや硫化水素の同位体組成が軟体部の同位体組成を規制していると考えられる。そこで本研究では、シンカイヒバリガイ軟体部の軽元素同位体を分析し、どのようにエネルギーを獲得しているか調査した。

2. 研究試料・研究方法

試料は 2014 年 7 月に実施された新青丸調査航海(KS-14-10 次航海 Leg2)において第一奄美海丘周辺海域で採取されたシンカイヒバリガイ(*Bathymodiolus taiwanensis*)を用いた。貝試料の軟体部は、部位毎に分けて凍結乾燥した後、粉碎して均質化し、安定同位体比質量分析計で炭素、窒素、硫黄の同位体測定を行った。

3. 結果・考察

分析の結果、炭素同位体比($\delta^{13}\text{C}$)は-27.1~ -26.4‰、窒素同位体比($\delta^{15}\text{N}$)は-8.41~ -5.51‰、硫黄同位体比($\delta^{34}\text{S}$)は+5.86~ +8.12‰の値を示した。これらの分析結果から、 $\delta^{34}\text{S}$ 値は海水硫酸塩より低いこと、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は通常海底堆積物中有機物の値より少し低いことが分かった。この結果から、本シンカイヒバリガイが持つ硫黄酸化細菌などの共生細菌が熱水付近の $\delta^{34}\text{S}$ 値の低い硫化物を利用し、エネルギーを獲得していると考えられる。また比較的低い $\delta^{13}\text{C}$ 値から、共生細菌による海水中の溶存二酸化炭素固定、メタン酸化細菌などの共生細菌による生息環境中のメタンの酸化からもエネルギーを獲得していると考えられる。

窒素同位体比については、生息環境中に供給される窒素に由来する可能性や、共生細菌から宿主間の代謝過程で起きる窒素同位体分別に由来する可能性が考えられる。窒素の動態を理解するため、熱水付近に溶存する窒素化合物の種類とその濃度や同位体比を明らかにする必要がある。

C, N and S isotopic compositions of bivalves on the Daiiti - Amami knoll

*Y. Amamiya¹, K. Tanaka¹, Y. Tomonaga², K. Shirai¹, A. Ishida¹, T. Kagoshima¹ and Y. Sano¹

(¹AORI, Univ. Tokyo, ²ETH, Switzerland)

○小川奈々子、吉川知里、大河内直彦
(海洋研究開発機構)

元素の安定同位体比は、物質の移動プロセスに関する研究ツールとしての有用性が高く、地球上の様々なシステムにおける物質循環の研究で重用されている^[1-3]。化合物レベルでの安定同位体比測定手法(CSIA; compound-specific isotope analysis) は、この安定同位体比を用いた解析手法を、物質移動プロセスに関与する特定の化合物に対して用いることで、より明確で核心に迫る研究手法として開発された。様々な情報が混在する天然環境試料に対しても安定同位体比の特性を最大限に生かすことが出来るため、古環境や海洋物質循環の解析、生態系内での物質動態解析等に広く用いられている^[4-6]。

植物プランクトンの光合成による有機物合成は、地球上の生物的物质循環を考えるうえで重要な要素であるが、湖水や海水中から植物プランクトンのみを捕集して一次生産者情報を得ることは、現在もなお技術的に非常に困難である。光合成アンテナ色素の一つであるクロロフィルやその分解生成物は、このような光合成物質循環を解析するための格好の指標化合物とみなされており、その CSIA を用いた手法は、湖沼および海洋における光合成物質循環の解析研究に威力を発揮してきた^[7,8]。

本研究では、外洋における光合成と海洋窒素循環に関する知見を深めることを目的として、亜寒帯海域の K2 観測地点(47°00'N, 160°00')を中心に有光層の懸濁態試料(POM)とそのクロロフィル色素(クロロフィル *a*, フェオフィチン *a*)、海水中の硝酸態窒素の窒素安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$)を測定した。得られた POM、硝酸態窒素、クロロフィル色素の $\delta^{15}\text{N}$ 値はそれぞれ-1.4~0.3‰、6.6~8.4‰、-5.3~-1.3‰であった。POM および硝酸態窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、近隣地点でそれぞれ-0.6~5.9‰、12.5‰と報告されている^[9]。またクロロフィルが POM より軽い値を示す傾向は、培養及び湖沼天然試料で得られた研究例^[10,11]と概ね同様であった。一方、先行研究^[10,11]で示された植物プランクトン細胞(cell)とクロロフィル(Chl)との $\delta^{15}\text{N}$ 値の関係式($\delta^{15}\text{N}_{\text{cell}} \approx \delta^{15}\text{N}_{\text{Chl}} + 4.8$)から推定される植物プランクトン細胞の $\delta^{15}\text{N}$ 値は-0.5~3.5‰となり、観測された POM より最大で 4.8‰高い値を示した。このことから K2 地点の懸濁態試料には、植物プランクトンよりも低い窒素同位体比を持つ何らかの化合物が混在している可能性が示唆された。

[1] Wada E & Hattori A (1990) Nitrogen in the Sea: Forms, Abundance, and Rate Processes, CRC Press [2] Fry B (2006) Stable Isotope Ecology, Springer-Verlag New York [3] Hoefs J (2013) Stable Isotope Geochemistry, Springer-Verlag Berlin [4] Tyler et al. (2010) Geochemistry, Geophysics, Geosystems 11, Q09010 [5] Takano et al. (2010) Nature Geoscience 3, 858-861 [6] Ogawa et al. (2013) Ecological Research 28, 697-702 [7] Chikaraishi et al (2005) Geochim Cosmochim Acta 69, 3285-3297 [8] Ohkouchi et al. (2005) Environ Microbiol 7, 1009-1016 [9] Minagawa et al. (2001) J Oceanography 57, 285-300 [10] Sachs et al. (1999) Geochim Cosmochim Acta 63, 1431-1441 [11] Ohkouchi et al. (2006) Biogeosci 3, 467-478.

Nitrogen isotopic composition of chlorophylls in the photic zone of the Northwest Pacific Ocean.

*N.O. Ogawa, C. Yoshikawa, N. Ohkouchi (JAMSTEC)

2A07

炭素・窒素安定同位体比による富山湾沿岸生態系への陸域からの影響の把握

○浦沢 知紘¹、張 勁¹、稲村 修²

(¹ 富山大院理工、² 魚津水族館)

【はじめに】富山県は、標高 3000 m 級の山々から海岸までの水平距離が約 50 km と短く、急峻な地形の中に、森林や水田、工業地帯、住宅地等の多様な環境が存在している。富山県の年間降水量は 2000 mm 以上と多く、陸域から河川水や海底地下水湧出によって多量の淡水が富山湾に流入しており、富山湾にもたらされる陸起源物質（栄養塩や有機物等）は、沿岸生態系に大きな影響を与えると考えられている（Hatta and Zhang, 2013）が、その詳細は不明である。本研究では富山湾の沿岸域における陸域からの物質輸送の影響の把握を目的として、炭素・窒素安定同位体比を用いて食物網解析を行った。

【試料採取・分析】富山湾内における陸域からの影響の違いをみるため、急流河川が多い県東部と河川が少ない県西部で、移動性の低い沿岸生物（貝類・魚類）と一次生産者である海藻や河川・沿岸の懸濁態有機物（Particulate Organic Matter : POM）を採取した。試料は脱脂や炭酸塩の除去等を行った後、質量分析計を用いて炭素・窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ）を測定した（測定誤差： $\delta^{13}\text{C}=0.017\text{‰}$ 、 $\delta^{15}\text{N}=0.15\text{‰}$ ）。

【結果・考察】 $\delta^{15}\text{N}$ からみた陸起源物質の寄与：一栄養段階における $\delta^{15}\text{N}$ の濃縮率を約 +3.4‰ として（Minagawa and Wada, 1984）、魚類や貝類の $\delta^{15}\text{N}$ から推定される富山湾沿岸の基礎生産者の $\delta^{15}\text{N}$ は約 -1~4‰ で、一般的な海洋の基礎生産者の 5~8‰（南川・和田, 1985）に比べて低いことが分かった。このことから、富山湾沿岸域の広範囲において、低い $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ が基礎生産に寄与していると推測された。また、付着性二枚貝の $\delta^{15}\text{N}$ は、淡水流入量が少ない県西部では 6.1~6.3‰ であったが、淡水流入量が多い県東部では 2.5~3.6‰ と明らかに低い値を示した。富山湾に流入する急流河川は、低い $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ を持つ降水由来の河川水が人為的な汚染や脱窒等の影響を大きく受けずに流下するため、 $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3$ は年平均で -1.6~0.0‰ と低く（張・佐野、2014）、急流河川水の NO_3 が基礎生産者に寄与しており、窒素源としての重要性が示唆された。

$\delta^{13}\text{C}$ からみた陸起源物質の寄与：沿岸生物の $\delta^{13}\text{C}$ は多くが -18~-14‰ の範囲であり、沿岸域 POM（ $-20.6 \pm 2.1\text{‰}$ ）や河川 POM（ $-25.8 \pm 1.2\text{‰}$ ）に比べて高い値を示した。また、付着藻類食の貝類（ $-18.7 \sim -11.8\text{‰}$ ）と魚類（ $-19.7 \sim -14.0\text{‰}$ ）の $\delta^{13}\text{C}$ は高く、大きな変異があった。以上より、富山湾沿岸の食物網では、沿岸域の植物プランクトン以外に、付着藻類が基礎生産者として大きく寄与していることが示された。これは、地中海や瀬戸内海等での報告（Page and Lastra, 2003、高井ら、2003）と同様であった。

今後の研究：富山湾の沿岸食物網においては、陸域からの溶存態窒素が大きく寄与している一方で、河川 POM の主体である陸起源有機物が直接的には利用されていないことが示唆された。今後は、陸起源有機物の挙動について、検討していく必要がある。また、富山湾の沖合や日本海への物質循環についても、関連性を研究していきたい。

Influence of terrestrial input to the coastal ecosystem using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in the Toyama Bay

*C.Urasawa¹, J.Zhang¹ and O.Inamura² (¹Graduate School of Sci. and Eng. Univ. of Toyama, ²Uozu Aquarium)

光合成色素分析により明らかにする高塩下の海洋環境

○伊左治雄太¹、川幡穂高¹、黒田潤一郎²、吉村寿紘¹、Francis J. Jimenez-Espejo²、Stefano Lugli³、Vinicio Manzi⁴、Marco Roveri⁴、小川奈々子²、大河内直彦²

(¹東京大学大気海洋研究所、²海洋研究開発機構、³Univ. degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche、⁴Univ. of Parma, Physics and Earth Science Dept.)

塩分は生物の生息限界を規定する最も重要な環境因子の一つである。海水が蒸発し高塩化が進むと、浸透圧の上昇、pH の低下、酸化還元状態の変化などに耐性を持つ一部の生物のみが大部分を占める特異な生態系が形成される。そして、それに伴い生態系内で駆動する生物地球化学プロセスも激変する。生物地球化学プロセスは、地球表層環境を強く規定している重要な因子であるが、塩分の変化に対する地球表層環境の応答に関する研究はこれまで数えるほどしか行われていない。本研究では、現代の高塩環境としてシチリア島のトラパニ塩田、また、およそ 600 万年前から 70 万年間にわたって地中海の海底下に厚さ 2km ほどの蒸発岩層を形成した「地中海（メッシニアン）塩分危機」に着目し、塩分の変化に対する生態系の応答を有機分析によって明らかにする。

トラパニ塩田の石膏堆積時の高塩水中には、光合成生物の生息は確認されていない。一方で、石膏試料の色素分析により、石膏内部に生息しているシアノバクテリア、緑色硫黄細菌、紅色硫黄細菌由来のクロロフィル化合物が検出された。これらの石膏内部の光合成細菌は、光量や酸化還元状態に応じて住み分けをしていると考えられる。

塩分危機時の蒸発岩試料としては、シチリア島で採取した石膏とそれに挟まれた黒色頁岩を用いた。この黒色頁岩層は、高塩化の進行の過程で一時的に淡水が流入したことで堆積したと考えられている(Lugli *et al.*, 2010)。色素分析の結果、黒色頁岩中にはカロチノイドの一種であるイソラニエラテンが主要成分の一つとして含まれていることが明らかになった。イソラニエラテンは、絶対嫌気性の光合成細菌である緑色硫黄細菌によってのみ合成されることが知られている(Summons & Powell, 1986)。このことは、黒色頁岩が堆積した当時の海洋が、重い高塩水の上を淡水（もしくは低塩分水）が覆う成層状態にあり、亜表層の高塩水が無酸素化していたことを示唆する。

On the marine ecosystem and biogeochemistry under the hypersaline environment based on the photosynthetic pigment study

*Y. Isaji¹, H. Kawahata¹, J. Kuroda², T. Yoshimura¹, F. J. Jimenez-Espejo², S. Lugli³, V. Manzi⁴, M. Roveri⁴, N. O. Ogawa², and N. Ohkouchi² (¹Atmosphere and Ocean Research Inst., Univ. of Tokyo, ²Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, ³Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche, Univ. degli Studi di Modena e Reggio Emilia, ⁴Physics and Earth Science Dept., Univ. of Parma)

2A09

堆積岩中の芳香族ステロイド組成を用いた 海洋基礎生産者の復元

○安藤 卓人¹, 沢田 健¹, 高嶋 礼詩², 西 弘嗣²

(¹北海道大学大学院・理学院、²東北大学総合学術博物館)

渦鞭毛藻は現海洋における主要な基礎生産者で、一部は赤潮種としても知られており、そのバイオマーカーであるジノステロイド (dinosteroid) は渦鞭毛藻の進化などの研究に広く用いられてきた。また、渦鞭毛藻の休眠期胞子 (シスト) 化石を用いた復元も多くなされてきた。渦鞭毛藻シストとジノステロイドの関係性がこれまでに検討された例は少ないが、古生界から中世界堆積岩中の三芳香環ジノステロイドの割合が渦鞭毛藻シストとアクリタークの種数に対応して変動していることが指摘されている (Moldowan et al., 1996)。しかし、三芳香環ステロイドの分離・同定が難しい点から応用例は非常に少なく、それらを用いた海洋基礎生産者復元のより詳細な検討も行なわれてこなかった。本発表では、堆積岩中の芳香族ステロイドの同定を詳細に検討し、それらを用いた指標から海洋基礎生産者群集を復元した結果を報告する。

試料は南東フランスの白亜系海洋無酸素事変 (OAE) 層準と北海道大夕張・苫前地域の白亜系蝦夷層群から採取した堆積岩を主に用いた。これらの試料は有機溶媒抽出・分画し、GC-MS により分析を行なった。また、三芳香環ステロイドの GC-MS による分離と同定は2種類の極性と長さの異なるカラム (DB5-HT, VF-200ms) を用いた。

三芳香環ジノステロイドを用いた TADS (渦鞭毛藻指標; 安藤・沢田, 2012) に加え、白亜紀中期の外洋域では円石藻が主要な C₂₈ ステロールの生産者であったと推測されるため、派生物の C₂₇ 三芳香環ステロイドを分子に用いた C₂₇ TAS (円石藻指標) を提案した。これら三芳香環ステロイド指標は、南東フランス試料で互いに逆相関するため、白亜紀における円石藻と渦鞭毛藻の競争関係が示唆される。南東フランス試料においては Paquier (OAE1b) 層準と Thomel (OAE2) 層準で TADS が特に高い値を示し、渦鞭毛藻の高生産が示唆された。現生の渦鞭毛藻は赤潮種に代表されるように成層化した富栄養な海域で繁茂することが知られている。過去の研究から OAE1b の極相期である Paquier 期, OAE2 の 1st-build up, 2nd-build up, Plateau 期では富栄養環境と高生産が示唆されており (Herrle et al., 2003; Monteiro et al., 2013), TADS 値はそれらの層準で特に高い値であった。南東フランスでは OAE 極相期の富栄養で成層化した海洋において渦鞭毛藻が繁茂していたと推察される。一方で、大夕張地域試料では TADS が低く C₂₇ TAS が高い値であり、より沿岸に近い堆積環境が推測される苫前地域では TADS が高く C₂₇ TAS が低い値であった。また、苫前地域の TADS 値は全試料中で最も高い値を示した。以上の結果から、白亜紀においても現在のように沿岸に近い海洋表層においては渦鞭毛藻の生産性が高かったことが指摘できる。

Marine primary producer communities reconstructed using aromatic steroids in the sedimentary rocks.

○T. Ando¹, K. Sawada¹, H. Nishi² and R. Takashima²

(¹Faculty Sci., Hokkaido Univ., ²Tohoku Univ. Museum, Tohoku Univ.)

2A10

藻類バイオ燃料と藻類脂質に直接関連した化石燃料の研究

沢田 健^{1,2}

(¹北海道大学・理学院、²JST CREST)

現在、世界的なエネルギー需要は益々増加し、化石燃料消費にともなう地球温暖化や、将来的な燃料資源の枯渇などの問題が顕在化しつつある。近年、石油などの化石燃料資源の代替エネルギーとしてバイオマスを利用したバイオ燃料が注目されていて、その一つとして海生・淡水生微細藻類を用いたバイオ燃料生産がある。藻類バイオマスは陸上の耕作地を必要とせず食料生産と競合しない、枯渇問題が深刻な淡水を使用しないなどの利点がある。日本国内でも JST の戦略的創造推進研究事業 (CREST) 「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」(東京農工大・松永是学長) などの大型研究プロジェクトが行われていて、藻類バイオ燃料に関する基礎・応用研究が着実に進められている。一方で、このようなバイオ燃料の研究は、化石燃料研究に対しても新しい知見や技術が与えられると期待できる。例えば、バイオ燃料を産生する藻類として注目されている緑藻 *Botryococcus braunii* は、原油を直接生成した藻類として、またタイプ I ケロジェンの起源として、地球化学分野では 1970 年代くらいからよく知られている。このような藻類の培養細胞を用いた研究から、自然界で有機地球化学過程において微細藻類が合成する脂質から直接生成されるケロジェンの反応過程や、化石燃料としてどれだけの貢献があるかという定量的評価ができる可能性がある。このような研究は、地球化学として有益な研究テーマになり得ると思われる。また、上記の CREST プロジェクトの研究テーマの 1 つに、「海洋ハプト藻類のアルケノン合成経路の解明と基盤技術の開発」(代表：筑波大学・白岩善博教授) があり、演者の研究室もそのプロジェクトの一員として研究を行っている。このハプト藻が合成する脂質であるアルケノン・アルケンは、地球化学や古気候・古海洋学分野では古水温指標としてよく知られるハプト藻バイオマーカーである。これらがバイオ燃料の材料としても最近、注目されている。一方で、生物科学分野ではアルケノンはほとんど知られていない化合物であり、アルケノンに関する地球化学の研究成果がバイオ燃料研究に大きく貢献している。また一方で、アルケノンのバイオ燃料研究において、ハプト藻類に由来する脂質が直接的に化石燃料に貢献する定量的な評価ができる可能性がある。さらに付け加えると、アルケノンにおいて未だにわかっていない細胞内の合成系・植物生理学的機能や、不飽和比の温度相関性の生理学的な仕組みを解明するための知見も得られると期待される。本講演では、そのようなバイオ燃料研究に関連した地球化学、とくに化石燃料に関する研究について紹介する。

Geochemical studies on algal biofuel and fossil fuel produced directly by algae

* Ken Sawada^{1,2} (¹Faculty of Science, Hokkaido Univ., ²JST CREST)

2A11

パルマ藻培養試料の熱熟成実験による生体脂質の続成過程の検討

○阿部涼平¹、沢田健¹、加納千紗都¹、吉川伸哉²、桑田晃³

(¹ 北海道大学理学院、² 福井県立大学生物資源学研究科、³ 東北区水産研究所)

微細藻類は、海洋全体に普遍的に生息することが知られており、その一つであるパルマ藻は、亜寒帯域などにおける主要な基礎生産者であると考えられている。パルマ藻は珪酸質の殻を持つことが知られ、また細胞サイズが $2\sim 5\mu\text{m}$ であり、非常に微小な藻類（ピコプランクトン）である。2008 年、共同研究者の桑田らのグループが、特殊な色素を用いることでパルマ藻を単離し、培養させることに世界で初めて成功した。この培養株の分子系統解析から、パルマ藻が従来考えられていた黄金色藻綱(Booth and Marchant, 1987)には属さず、同じく不等毛植物門の珪藻綱に極めて近縁であり無殻の鞭毛藻であるボリド藻綱に位置することが明らかになった(Ichinomiya et al., 2011)。このように珪藻と共通の祖先を持つパルマ藻は、珪藻の進化過程の解明の足がかりとなる重要な藻類であると考えられている。

パルマ藻の持つ珪酸質殻は続成作用により容易に分解してしまう。そのためパルマ藻の出現時期の推定を行うには、パルマ藻の持つ脂質バイオマーカーを分子化石として用いる有機地球化学的なアプローチが有用である。パルマ藻の培養試料を用いたバイオマーカー分析の結果、多不飽和アルケン($\text{C}_{21:6}$)や、多不飽和脂肪酸、 C_{29} ステロール(β -シトステロール)などが同定された。しかし、堆積物の中ではこれらの化合物は続成作用を受け、構造が変化していると考えられる。パルマ藻バイオマーカーの分子化石としての利用を考えた場合、その続成変化の解明は必要不可欠である。そこで本研究では、パルマ藻の培養試料に粘土鉱物であるモンモリロナイトを添加して 320°C で 72 時間加熱し、人工的な熱熟成シミュレーションを行うことで、パルマ藻バイオマーカーが堆積物の中で続成していく過程を再現することを試みた。熱熟成実験の結果、加熱後の試料から n -アルカン、脂肪酸、また C_{29} ステランおよびステレン、ジアステレンなどが検出された。これらのステロイドは C_{29} ステロール由来であり、特にモンモリロナイトが固体酸触媒としての役割を果たすことでジアステレンへの化学的変化が起きたと推測される。ジアステレンは 20R 体と 20S 体が検出され、異性化が起きていることが確認された。本研究はパルマ藻培養試料を用い、パルマ藻バイオマーカーの分子化石としての可能性を検討するものである。

Examination for diagenetic processes of biological lipids by thermal maturation experiment of Parmales

*R. Abe¹, K. Sawada¹, C. Kanou¹, S. Yoshikawa² and A. Kuwata³ (¹Hokkaido Univ., ²Fukui Prefectural Univ., ³Tohoku National Fisheries Res. Inst.)

○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)

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。海洋には Noëlarhabdaceae 科の *Emiliana* 属や *Gephyrocapsa* 属の種が主なアルケノン生産種として広く分布しており、*Emiliana* 属の培養実験に基づく $U_{37}^{K'}$ -水温換算式が世界中の海洋堆積物からの古水温復元に適用される。一方で、近年報告が相次ぐ湖沼由来のアルケノン組成は海洋ではあまり見られない特徴をもち (4 不飽和化合物の卓越など)、湖沼によっても組成に多様性が見られる。環境 DNA 分析により、湖沼には海洋の *Emiliana* 属などとは科レベルで異なる多様なハプト藻種が分布していることが明らかになり、多くの湖から Isochrysidaceae 科 *Ruttnera* (*Chrysotila*) 属や *Isochrysis* 属、*Tisochrysis* 属に近縁の遺伝子配列が得られている。Isochrysidaceae 科の培養株を用いた水温換算式の報告は少ないものの、先行研究から属レベルで水温換算式が異なることが示唆されている。従って、湖沼堆積物のアルケノン組成を古水温計として応用するためには、1) アルケノン生産種を推定し、2) アルケノン生産種に応じた水温換算式を選択する必要がある。1) に関連して、これまでに Isochrysidaceae 科 *Ruttnera* 属、*Isochrysis* 属、*Tisochrysis* 属の培養株のアルケノン組成の比較から、4 不飽和アルケノンの有無や 3 不飽和アルケノン・アルケノエイトの組成に属レベルで特徴があることを報告した。本研究では 2) に関連して、これまでに水温換算式が報告されていない *Tisochrysis* 属の生育温度とアルケノン組成の関係を明らかにするため、*T. lutea* CCMP463 株および NIES2590 株を異なる水温で培養し、アルケノン組成を解析した。

T. lutea 2 株は 15–35 °C で良く増殖し、低温端においても 4 不飽和アルケノンを合成しなかった。得られた水温換算式の傾きは既報の *Isochrysis* 株や *Ruttnera* 属よりも大きく、生育温度の全域にわたり 2 不飽和アルケノンと 3 不飽和アルケノンの比を大きく変化させて水温に応答することが明らかになった。これは、主に 4 不飽和アルケノンと 3 不飽和アルケノンの割合を変化させて水温に応答する *Ruttnera* 属や、広い水温範囲で 3 不飽和アルケノンが卓越する *Isochrysis* 属とは明らかに異なる温度応答である。*T. lutea* 2 株の換算式は互いに似ていることから、これを *T. lutea* に共通の特徴であると考えている。*T. lutea* の新しい換算式は沿岸や陸域の古水温復元に必要なアルケノン生産種の系統と水温換算式の対応関係に新たなバリエーションを与えるものであり、4 不飽和化合物に乏しいアルケノン組成をもつ湖などでの検討が期待される。

Alkenone unsaturation ratio – temperature calibrations of *Tisochrysis lutea* (Isochrysidaceae)

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

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

○宮田遊磨¹、沢田健¹、中村英人¹(¹北海道大学理学院)

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、生育環境などによって変化することが知られている。また、微生物分解や続成作用に抵抗性を持ち、植物化石や植物起源ケロジェンなどの堆積有機物の本体を構成する主要成分として選択的に保存されていると考えられている。植物化石を構成する高分子の脂肪族構造の部分は主にクチンを含む表皮組織が選択的に保存されたものだと考えられている。化石高分子を構成するアルキル脂質構造(ユニット)の組成を調べることで、植物化石の分類や堆積環境、生育した当時の古環境に関する情報が得られる可能性があり、演者らは白亜紀の植物化石の抵抗性高分子を対象として有機化学分析を行ってきた。しかし、植物生体を持つクチン酸の組成が化石高分子の脂肪族成分にどのように反映されているのかは不明瞭である。本研究では、植物の表皮を構成する脂質がどのように保存・分解され化石高分子のアルキル脂質組成に反映されているのかを理解するため、現生植物の葉の組織を用い加熱実験を行った。試料を真空のガラス管に封入し 300℃で 24 時間加熱処理を行った。加熱前に有機溶媒抽出を行いワックスなど低分子量の脂質を取り除いたものも同様に分析した。加熱処理後に有機溶媒抽出、アルカリ加水分解、熱化学分解の連続抽出を行い、アルキル脂質の組成を調べた。

脂肪酸、アルカノール、ジカルボン酸が加熱処理後の結合態アルキル脂質として主に検出された。メタセコイアの葉を用いた加熱実験では、C₂₀ 以上の長鎖の脂肪酸が加熱後の加水分解および熱化学分解画分に含まれていたが、加熱前に抽出処理を行ったほうの葉にはこれらの成分は含まれなかった。また、抽出処理を行った葉は処理をしていないものと比べ結合態アルキル脂質の収量が著しく少なく、メタセコイアにおいては化石高分子へのクチンの寄与があまり大きくないことが示唆された。異なる前処理を行った加熱実験により、一部の試料では難分解性のクチンよりもむしろワックスに由来するアルキル脂質のほうが加水分解性および非加水分解性の高分子成分として保存されていることが明らかになった。講演では、加熱前の植物生体を持つ遊離態および加水分解性と加熱実験後に得られた抽出成分、加水分解成分、熱化学分解成分のアルキル脂質の組成とを比較しながら、アルキル脂質の高分子化過程をより詳細に議論する。

Diagenetic changes of resistant macromolecules in modern plant tissues by artificial thermal maturation experiments

*Y. Miyata¹, K. Sawada¹, H. Nakamura¹, (¹Faculty of Science, Hokkaido Univ.)