

## 総説

**Ferreira, V. S.・Sant' Anna C. : 緑色微細藻類の生長と脂質生産性を最大化する, 物理化学的および栄養塩の条件**

Veronica da Silva Ferreira and Celso Sant'Anna: The effect of physicochemical conditions and nutrient sources on maximizing the growth and lipid productivity of green microalgae

バイオディーゼルは、たいてい中性脂質（トリアシルグリセロール）のエステル交換反応によって、食用および非食用の作物から生み出された再生可能燃料である。しかしながら、作物由来のバイオディーゼル生産は、耕作地、食料価格の増大、および生物多様性の損失を引き起こし、食用作物生産と競合する。食用作物と比較した時、油を含む微生物—特に微細藻類—からのバイオディーゼルの生産は、これらの生物が高い脂質生産性を持つことから注目された。いくつかの環境要因—光、温度、pH および栄養塩（特に、窒素、リン、鉄）—は、微細藻類のトリアシルグリセロールや他の脂質の生産、蓄積能力に直接影響し、そして微細藻類の生長も調整する。環境要因の一部は、いくつかの生物種に同様な影響を与えるが、種間において反応の差異はしばしば起こり、生長とバイオディーゼル生産を支える脂質生産のバランスを取るためには、それぞれの種における最適な培養条件の特定が重要である。この論文において、我々は、異なるオイル生産性の緑色微細藻類種における、物理化学的および栄養塩に対する生長と脂質生産性の影響をレビューする。(National Institute of Metrology, Quality and Technology - Inmetro, Brazil)

**Tamayo-Ordóñez, Y. J.<sup>1</sup>・Ayil-Gutiérrez, B. A.<sup>2</sup>・Sánchez-Teyer, F. L.<sup>1</sup>・De la Cruz-Arguijo, E. A.<sup>3</sup>・Tamayo-Ordóñez, F. A.<sup>4</sup>・Córdova-Quiroz, A. V.<sup>4</sup>・Tamayo-Ordóñez, M. C.<sup>1</sup> : バイオ燃料生産のための脂質生合成に関する培養と遺伝子改変アプローチの進展, および藻類の脂質生合成に関連する蛋白質の酵素ドミノンのコンピュータ解析**

Yahaira J. Tamayo-Ordóñez,<sup>1</sup> Benjamin A. Ayil-Gutiérrez,<sup>2</sup> Felipe L. Sánchez-Teyer,<sup>1</sup> Erika A. De la Cruz-Arguijo,<sup>3</sup> Francisco A. Tamayo-Ordóñez,<sup>4</sup> Atl Victor Córdova-Quiroz<sup>4</sup> and Maria C. Tamayo-Ordóñez<sup>1</sup> : Advances in culture and genetic modification approaches to lipid biosynthesis for biofuel production and in silico analysis of enzymatic dominions in proteins related to lipid biosynthesis in algae

バイオ燃料は化石燃料の使用を減らすための有望で非常に魅力的な代替燃料になると考えられ、微細藻類は脂質あるいは商業的に興味ある物質を生産する潜在的な候補者として位

置づけられている。我々はバイオ燃料生産における脂質生産を改善するための微細藻類の培養条件の検討や遺伝子操作の最近の進展をレビューする。いずれのアプローチも同様にトリアシルグリセリドを生産することを示し、脂質の生産や蓄積を改善するためにより多くの研究が必要とされている。藻類の遺伝子操作の知見を得、脂質生合成経路を改変するための情報を将来的に使用していくために、我々は藻類において脂質生産や蓄積に関わる脂質生合成に関連する酵素のいくつかの特性を調べた。また、我々はコンピュータを使用して微細藻類の脂質生合成に関与する3つのタンパク質、acetyl-CoA carboxilase, Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase および glycerol-3-phosphate acyltransferase の酵素ドメインのアミノ酸解析を行い、三次構造をモデル化した。我々の結果は、基本的なアミノ酸配列とタンパク質の三次構造は、いくつかの藻類内で共有され、これらのタンパク質が脂質の生産や蓄積に関与していると考えられた。また、バイオインフォマティクスはコンピュータを使用したタンパク質の研究や脂質生合成に関与する遺伝子の選択において強力なツールになり、遺伝子工学によって生産能、蓄積、脂肪酸組成を改変するという長期的な目標を持つ藻類において異種由来の変換のために有効と思われる。<sup>1</sup>Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, <sup>2</sup>CONACYT-Centro de Biotecnología Genómica, <sup>3</sup>Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa, <sup>4</sup>Facultad de Química, Dependencia Académica de Ciencias Químicas y Petroleras, Universidad Autónoma del Carmen, Mexico)

## 原著論文

**澤井 祐紀・南雲 保・行谷 佑一・Marco Cisternas・Marcelo Lagos・宍倉正展 : 南部—中部チリの塩性湿地における珪藻群集 : 冠水時間および塩分との関係**

Yuki Sawai,<sup>1\*</sup> Tamotsu Nagumo,<sup>2</sup> Yuichi Namegaya,<sup>1</sup> Marco Cisternas,<sup>3</sup> Marcelo Lagos<sup>4</sup> and Masanobu Shishikura<sup>1</sup>: Diatom (Bacillariophyceae) assemblages in salt marshes of south-central Chile: relations with tidal inundation time and salinity

珪藻類を用いて過去の海水準変動の歴史を復元するためには、沿岸域における環境傾斜と汽水生珪藻の関係をより良く理解する必要がある。本研究では、これまで研究例の少なかった南部—中部チリにおいて、統計的な分析から底生珪藻と環境要因の関係を明らかにした。現地では、塩性湿地環境を横切る4測線で調査を行い、112試料から224分類群

を同定した。珪藻の相対的な産出頻度を用いて除歪正準対応分析を行った結果、珪藻群集は冠水時間および塩分に対して相関関係にあることが明らかになった。加重平均近似ならびに部分最小二乗法による加重平均近似を試用したところ、部分最小二乗法による加重平均近似が最も寄与率が高く、推定誤差の二乗平均平方根が小さかった。以上のような結果は、化石珪藻群集を用いた古環境復元に有用であると考えられる。<sup>1</sup>産業技術総合研究所,<sup>2</sup>日本歯科大学,<sup>3</sup> Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile,<sup>4</sup> Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile)

**Navarro, F.<sup>1</sup>・Forján, E.<sup>2</sup>・Vázquez, M.<sup>2</sup>・Toimil, A.<sup>1</sup>・Montero, Z.<sup>2</sup>・Ruiz-Domínguez, M. D.<sup>2</sup>・Garbayo, I.<sup>2</sup>・Castaño, M. A.<sup>3</sup>・Vílchez, C.<sup>2</sup>・Vega, J. M.<sup>4</sup> : 好酸性の真核微細藻 *Coccomyxa onubensis* の抗菌作用**

Francisco Navarro,<sup>1</sup> Eduardo Forján,<sup>2</sup> María Vázquez,<sup>2</sup> Alberto Toimil,<sup>1</sup> Zaida Montero,<sup>2</sup> María del C. Ruiz-Domínguez,<sup>2</sup> Inés Garbayo,<sup>2</sup> Miguel A. Castaño,<sup>3</sup> Carlos Vílchez<sup>2</sup> and José M. Vega<sup>4</sup>: Antimicrobial activity of the acidophilic eukaryotic microalga *Coccomyxa onubensis*

極限微細藻類は、大量培養によるバイオマス生産において、コンタミネーションに対するリスクが低い資源であるにもかかわらず、調剤の原材料としては未開拓である。好酸性の真核微細藻 *Coccomyxa onubensis* のヘキサソール、ジエチルエーテル、クロロホルムなどの無極性溶媒、またはジクロロメタンなどの低極性溶媒による抽出物は、グラム陰性およびグラム陽性菌、または酵母 *Candida albicans* に対して強い抗菌作用を引き起こす。最も効果的な作用は、クロロホルムによる抽出物が *Escherichia coli* S, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis* に対して、ヘキサソール抽出物が *P. mirabilis*, *Sa. enterica*, *Ca. albicans* に対して、ジクロロメタン抽出物が *Sa. enterica* に対して、そしてジエチルエーテル抽出物が *Escherichia coli* S, グラム陽性の *Staphylococcus aureus* MB に対して見られている。抗菌効果の最小の濃度は、*Escherichia coli* S ( $305 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), *P. mirabilis* ( $153 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (クロロホルム抽出), *P. mirabilis* ( $106 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (ヘキサソール抽出) と記録された。カロテノイドではなく、脂肪酸がこの微細藻類の抗菌作用に関係しているようである。しかしながら、調剤の原材料とその生産の実現性に向けて、*Co.onubensis* の生物活性の特性を明らかにする為の、さらなる生化学的および生物工学的研究が必要であろう。<sup>(1,2)</sup>University of Huelva, Spain, <sup>(3)</sup>University Hospital Complex of Huelva Juan Ramón Jiménez, Spain, <sup>(4)</sup>University of Seville, Spain)

**Trnková, K.・Barták, M. : 極域に生育する *Nostoc commune* (Cyanobacteria, Nostocales) コロニーにおける光合成と分光反射率の光化学過程での乾燥誘導の変化**  
Kateřina Trnková and Miloš Barták : Desiccation-induced

changes in photochemical processes of photosynthesis and spectral reflectance in *Nostoc commune* (Cyanobacteria, Nostocales) colonies from polar regions

シアノバクテリアの *Nostoc commune* は乾燥に対して高い耐性を有している種である。本研究では、南極大陸産のコロニーにおいて制御された乾燥条件下での光合成と分光反射率を指標として光化学過程の変化を調べた。脱水過程において、水ポテンシャル (WP) は  $-3\text{MPa}$  に達し、光化学系 II の潜在的数値 ( $F_v/F_m$ ) と実効量子収率 ( $\Phi$  PSII) はコロニーから 90% の水分がなくなるまで、高い値を保持し、これらの値はさらに水分がなくなると急激に低下した。これはコロニーが細胞からではなく、細胞周辺にある糖類の包膜から主に水分を失ったことを意味する (相対水分含量 RWC =  $100-10\%$ )。90% の水分を失った後の光合成過程の阻害はクロロフィル蛍光のパラメーター  $F_p/F_s$  が増加したことにより示唆された。 $F_m$  は PSI と PSII との間のエネルギー分布を変える状態遷移なので、水分のあるコロニーにおける  $F_m$  よりも高くなった。しかし、脱水したコロニーにおける  $F_m$  とは同じレベルまで減少した。正規化差植生指数 (NDVI) と光化学反射指数 (PRI) はそれぞれ RWC と凹状や凸状の曲線関係を示した。しかし、NDVI 値の変化は統計的な差は認められなかった。PRI 値はフィコビリタンパクを含むため、主に 0 以下であった。これらの結果を北極地域の同種と比較した。我々の最大の発見は、シアノバクテリアが水分を失っていく間の分光反射率の変化を初めて測定したことである。(Masaryk University, Czech Republic)

**田中泰章<sup>1,2</sup>・鈴木淳<sup>3</sup>・酒井一彦<sup>1</sup> : 紅藻無節サンゴモ *Porolithon onkodes* に対する高水温とリン酸塩添加の影響**  
Yasuaki Tanaka,<sup>1,2</sup> Atsushi Suzuki<sup>3</sup> and Kazuhiko Sakai<sup>1</sup>: Effects of elevated seawater temperature and phosphate enrichment on the crustose coralline alga *Porolithon onkodes* (Rhodophyta)

サンゴ礁生態系は、地球規模の気候変動や局所的な水質変化など、様々な環境ストレスにさらされている。被覆状の無節サンゴモ *Porolithon onkodes* は、サンゴ礁生態系の形成にとってかかせない石灰化生物であり、環境変化の影響を詳細に調査する必要がある。本研究では、高水温とリン酸塩濃度の増加が *P. onkodes* に与える影響を調べるため、琉球大学瀬底研究施設において 1 か月間の屋内飼育実験を行った。その結果、石灰化速度は水温が  $27^\circ\text{C}$  から  $30^\circ\text{C}$  に上昇しても影響を受けなかったが、 $32^\circ\text{C}$  では有意に減少し、 $30^\circ\text{C}$  と  $32^\circ\text{C}$  の間にしきい値があることが示唆された。一方、 $1-2 \mu\text{mol L}^{-1}$  のリン酸塩濃度の増加は、石灰化速度には影響を与えず、光合成による酸素発生速度を増加させた。このことは、貧栄養なサンゴ礁に生育する *P. onkodes* にとって、リン酸塩が光合成の制限要因になっていることを示唆する。先行研究では、高濃度のリン酸塩は石灰化生物の炭酸カルシウム沈着速度を低下させることが報告されてきたが、本研究結果は、適

度なりン酸塩の供給であれば *P. onkodes* の石灰化速度は低下せず、栄養塩補給によって高水温ストレス下でも光合成を維持できるというむしろプラスの効果もあることが示された。<sup>1</sup> 琉球大学, <sup>2</sup> Universiti Brunei Darussalam, Brunei Darussalam, <sup>3</sup> 産業技術総合研究所)

**Peralta-García, E. · Caamal-Fuentes, E. · Robledo, D. · Hernández-Núñez, E. · Freile-Pelegrín, Y. : 紅藻 *Rhodymenia pseudopalmata* (Rhodomeniales, Rhodophyta) の脂質特性**

Edith Peralta-García, Edgar Caamal-Fuentes, Daniel Robledo, Emmanuel Hernández-Núñez and Yolanda Freile-Pelegrín : Lipid characterization of red alga *Rhodymenia pseudopalmata* (Rhodomeniales, Rhodophyta)

*Rhodymenia pseudopalmata* はユカタン半島のカリブ海沿岸に生育する紅藻であり、養殖において十分な成功を取っている。本研究では、2013年の3つの異なった季節に野生個体群から採集した *R. pseudopalmata* の脂質組成を調べた。また、養殖サンプルは生物工学利用の供給源としてその価値を評価するために分析、比較した。薄層クロマトグラフィー、<sup>1</sup>H と <sup>13</sup>C NMR およびガスクロマトグラフィー質量分析法は脂質構造の多様性を調べるために使用した。その結果、優占する脂質クラスは野生サンプルも養殖サンプルもリン脂質であった。リン脂質であるフォスファチジルコリンとフォスファチジルグリセロール、糖脂質であるモノガラクトシルジアシルグリセロールは野生および養殖のいずれにも存在した。一方、リン脂質であるリソファチジルコリンは野生サンプルでのみ確認された。脂肪酸 (FAs) は優占成分としてオレイン酸 (C18:1 ω 9) を含む一価不飽和脂肪酸 (MUFAs) 含量が高かった (野生サンプルおよび養殖サンプルの MUFAs はそれぞれ 78% と 94%)。また、飽和脂肪酸 (SFAs) は総脂肪酸量の約 90% を示し、飽和脂肪酸量の約 83% はパルミチン酸 (C16:0) であった。*Rhodymenia pseudopalmata* は他の紅藻類に比べ高度不飽和脂肪酸が低かった。1-ヘプタデセン、1-ヘキサデセン、15-ヘプタデセナール、3-エイコセン、6,10,14-トリメチル-2-ペンタデカノン、フィトールおよびヘプタデカンのような他の成分もまた確認された。天然と養殖における脂質含量の違いは、光や栄養塩が脂質含量の変化させるための要因になっていることを示唆している。脂質含量や養殖の実効性を考慮すると、*R. pseudopalmata* は機能性食品やバイオ燃料生産として可能性を秘めている。(CINVESTAV-Merida, Mexico)

**Borlongan, I. A.<sup>1</sup> · Gerung, G. S.<sup>2</sup> · Nishihara, G. N.<sup>3</sup> · 寺田竜太<sup>1</sup> : インドネシア北スラウェシ産 *Eucheuma denticulatum* と *Kappaphycus alvarezii* (褐色および緑色形態型) の光合成活性における光と温度の影響**

Iris Ann Borlongan<sup>1</sup>, Grevo S. Gerung<sup>2</sup>, Gregory N. Nishihara<sup>3</sup> and Ryuta Terada<sup>1</sup>: Light and temperature effects

on photosynthetic activity of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* (brown and green color morphotypes) from Sulawesi Utara, Indonesia

カラギーナン原藻の生理学におけるいくつかの非生物学的要因の影響に関する知見は、海藻産業の持続的発展のための原藻の十分な供給を可能にするために、生態的および経済的観点の両方において不可欠である。本論文では、酸素電極とパルス変調クロロフィル蛍光測定器を用い、異なる温度と光量の組み合わせによる光合成応答の測定によって決定されるインドネシア北スラウェシ産養殖紅藻 *Eucheuma denticulatum* と *Kappaphycus alvarezii* (褐色および緑色形態型) の光合成特性を報告している。26°Cにおける3タイプ (*E. denticulatum* と *K. alvarezii* の褐色と緑色型) の光合成・光曲線は、純光合成速度が光量の増加と共に増加し、飽和光量 ( $E_k$ ) は *E. denticulatum* で  $58 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (49 – 68  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 95% BPI), *K. alvarezii* の褐色と緑色型で 158 and 143  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (134 – 185 and 99 – 203  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 95% BPI) であり、3タイプとも 1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  において強光阻害が観察されなかった。また、3タイプとも、6時間の光暴露後に、最大量子収率 ( $F_v/F_m$ ) が暗馴致によって回復したことから、強光量 (1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) に対する耐性を示した。また、温度に対しても *E. denticulatum* が 19 ~ 33°C, *K. alvarezii* の褐色型が 20 ~ 29°C, 緑色型が 17 ~ 32°Cでの幅広い範囲で耐性を示した。これら3タイプの温度に対する応答は、養殖されている地域の海水温によく適応していることを示したが、30°C以上での  $F_v/F_m$  の低下を考慮すると、高温阻害の閾値に近い可能性もある。<sup>1</sup> 鹿児島大学, <sup>2</sup> Sam Ratulangi University, Indonesia, <sup>3</sup> 長崎大学)

**Paiano, M. O. · Necchi Jr. O. : 汽水性紅藻 *Batrachospermum viride-brasiliense* (紅藻植物門, カワモズク目) の系統地理**

Monica O. Paiano and Orlando Necchi Jr. : Phylogeography of the freshwater red alga *Batrachospermum viride-brasiliense* (Rhodophyta, Batrachospermales)

*Batrachospermum viride-brasiliense* の系統地理を2つのミトコンドリア領域、*cox2-3 spacer* 領域および *cox1* 遺伝子のバーコード領域、を使用して調査した。ブラジル内の分布域である9つの流域から得られた87個体を調べた。研究に使用した個体の中で、*cox2-3 spacer* 領域で10個、*cox1* 領域では9個のハプロタイプが認められた (それぞれ87 vs 43)。ハプロタイプ内の多様度は比較的lowであった (*cox2-3* で 2.4% 以下, *cox1* で 1.8% 以下)。採集地の多くは単一のハプロタイプを持ち、2か所だけはいずれのマーカーでも2つのハプロタイプを持った。*cox2-3* のハプロタイプネットワークは南から採集地がより密集した南東由来のハプロタイプをもつ南東方向へ系統地理学的な流れが認められた。*cox1* においては、南のハプロタイプがより密接な関連性を持って

いたことから、南東から南や北へ向かう拡散が明らかとなった。結果より、*B. viride-brasiliense* が単系統の種であり、系統地理学的なパターンもブラジルの南部と南東部のハプロタイプが非常に近いグループであることは明らかである。個体群間あるいは個体群内の変異レベルは *cox2-3* がやや高い値で2つのマーカーは同等であった。本研究で認められた流れは、1つあるいは2つのハプロタイプの中の小さな変異を持つ他のカワモズク目においても同様であり、より高い多様性を示すほどより距離の遠いハプロタイプが出てくるだろう。このパターンは採集地への移入が個体群の継続的な増殖を伴うひとつのイベントによる希な事象であるためと思われる。*B. viride-brasiliense* の地理的な分布は、南米の生物地理学モデル、つまり熱帯大西洋雨林、亜熱帯雨林および cerrado (ブラジルのサバンナ) のような3つの形態気候領域もしくは生物地理学的地方として解釈される。(São Paulo State University, Brazil)

**Tu, S.<sup>1,2</sup> · Yang, R.<sup>1</sup> · Xu, X.<sup>1</sup> · Chen, J.<sup>1</sup> · Luo, Q.<sup>1</sup> · Zhu, Z.<sup>1</sup> · Chen, H.<sup>1</sup> · Yan, X.<sup>2</sup> : *Pyropia haitanensis* における Flg22 誘導オキシリピン生産**

Shisheng Tu,<sup>1,2</sup> Rui Yang,<sup>1</sup> Xia Xu,<sup>1</sup> Juanjuan Chen,<sup>1</sup> Qijun Luo,<sup>1</sup> Zhujun Zhu,<sup>1</sup> Haimin Chen<sup>1</sup> and Xiaojun Yan<sup>2</sup> : Flg22-triggered oxylipin production in *Pyropia haitanensis*

本研究は、バクテリアのフラジェリンのN末端部分において最も保存されている22のアミノ酸ペプチドの flg22 が *Pyropia haitanensis* (ウケノリ目、紅藻植物門) の防御反応を誘導できるという証拠を提供する。防御反応は過酸化水素と遊離不飽和脂肪酸 C20:4 の放出、C18:3 の消費、そして化学的もしくは酵素学的に C20 と C18 の高度不飽和脂肪酸の両方の酸化を含む一連の流れで示される。酸化された C20 と C18 の脂肪酸は、9-ヒドロペルオキシオクタデカジエン酸、8-ヒドロペルオキシエイコサペンタエン酸および8-ヒドロキシルエイコサペンタエン酸のような対応するヒドロペルオキシ化やヒドロキシル化した誘導体を生産する。これらはさらに飽和アルデヒドやケトンとして酸化的に代謝される。3つの典型的なホルモンであるジャスモン酸、ジャスモン酸メチルおよびサリチル酸の変化が認められた。ジャスモン酸とジャスモン酸メチルの増加に対して、サリチル酸は減少した。*PhLOX* と *PhLOX2* のオキシリピン経路の鍵となる酵素の発現は増加した。しかし、防御や抗酸化に関連した *PhHsp70*、*Phsod* や *PhRboh* を含む遺伝子には flg22 の誘発する初期の段階で顕著に減少するものもあった。全体として、我々の結果は、紅藻類が高等植物と類似の防御反応を進化させ、高等植物の保存的な flg22 受容体を共有している可能性を示唆する。(1,2 Ningbo University, China)

**ノート**

稲葉遊<sup>1</sup> · 中東憲治<sup>1</sup> · 伊藤卓朗<sup>1,2</sup> · 富田勝<sup>1</sup> : 中鎖脂肪酸

**選択的なチオエステラーゼ遺伝子とアシルキャリアープロテイン遺伝子の同時導入による *Chlamydomonas reinhardtii* の脂肪酸炭素鎖長の改変**

Yu Inaba<sup>1</sup> · Kenji Nakahigashi<sup>1</sup> · Takuro Ito<sup>1,2</sup> · Masaru Tomita<sup>1</sup> : Alteration of fatty acid chain length of *Chlamydomonas reinhardtii* by simultaneous expression of medium-chain-specific thioesterase and acyl carrier protein

炭素鎖長 8–15 (C8–C15) の脂肪酸由来のバイオ燃料は従来のディーゼルやジェット燃料と性質が似ているため、エンジンや給油設備を一新するための時間とコストを削減できる。多くのオイル産生藻類は C16–C18 の脂肪酸を生産するため、藻類に C8–C15 の脂肪酸を生産させる遺伝子工学技術の開発が必要である。中鎖脂肪酸選択的なチオエステラーゼ (TE) を導入することは藻類を改変し中鎖脂肪酸 (MCFAs) を生産させるための効果的な手段だと考えられている。脂肪酸伸長サイクルの中で TE はアシルキャリアープロテイン (ACP) から脂肪酸を遊離させる働きをするため、TE が主に脂肪酸鎖長を決定すると考えられている。しかしながら、先行研究において C8–C12 特異的な外来の TE を *Chlamydomonas reinhardtii* に導入したが、MCFAs は増加しなかった。この結果は *C. reinhardtii* の ACP への外来の TE の親和性の低さが原因と推測された。そこで、私たちは陸上植物である *Cuphea lanceolata* 由来の C10–C14 選択的な TE 遺伝子と ACP 遺伝子両方を *C. reinhardtii* に導入した。液体クロマトグラフィー–質量分析計を用いて形質転換体中の遊離脂肪酸 (FFAs) とトリアシルグリセロール (TAGs) を測定した。炭素鎖長 12 と 14 の飽和遊離脂肪酸 (C12:0 及び C14:0) の生産はどの株でも有意に増加しなかった。しかし、TE のみの導入株及び TE–ACP 導入株の両方において MCFAs を含む TAG が僅かながら有意に増加した。C14:0 を含む TAGs の生産性は 1.25–1.58 倍に増加しており、中鎖脂肪酸特異的 TE の導入が MCFAs を増加させることを示した。これらの結果は、形質転換により真核藻類に MCFAs を生産させる場合、特異的な TE の選択が重要であることを示唆する。(1 慶應義塾大学, 2 科学技術振興機構さきがけ)



**英文誌 65 巻 1 号表紙**

インドネシア、バリ島の養殖場におけるカラギーナン原藻キリンサイ *Eucheuma denticulatum* (紅藻植物門ミリン科; 撮影: 寺田竜太)。インドネシア産 *E. denticulatum* と *Kappaphycus alvarezii* の光合成における温度と光量の特徴的な応答は、本号の Borlongan *et al.* によって報告されている。

## 原著論文

坂西芳彦<sup>1</sup>・葛西広海<sup>2</sup>・田中次郎<sup>3</sup>：褐藻コンブ目における生産性と耐久性のトレードオフYoshihiko Sakanishi<sup>1</sup>, Hiromi Kasai<sup>2</sup> and Jiro Tanaka<sup>3</sup> : Trade-off relationship between productivity and thallus toughness in Laminariales (Phaeophyceae)

2500 種を超える葉の生理生態形質の解析から明らかになってきた維管束植物の葉の生産性と耐久性のトレードオフは、植物の多種共存の維持メカニズムを理解する上で重要な現象と考えられている。したがって、このトレードオフに関する情報は、複数種で構成されるコンブ群落の保全を進める上でも重要なものになると考えられる。そこで、生産性と耐久性のトレードオフの存在を確かめるため、褐藻コンブ目 7 種 24 個体群について、藻体の生産性と耐久性に関する形質と形質間の関係を調べた。それぞれの個体群について、乾燥重量および窒素あたりの光合成速度、乾燥重量あたりの窒素含量、単位面積あたりの藻体重量、藻体の貫通荷重（葉の頑丈さを示す一般的な指標で、パンチ試験で測定）を測定した。その結果、窒素含量が高い藻体は高い光合成速度を示し、窒素含量が低い藻体は光合成速度が低かった。また、窒素含量が高い藻体は面積あたりの藻体重量が小さい傾向があり、藻体重量が大きな藻体では窒素含量は低くなった。したがって、面積あたりの重量が大きな藻体では窒素含量、光合成速度がともに低く、重量が小さな藻体では窒素含量、光合成速度がともに高い傾向があり、面積あたりの藻体重量と生産性の指標である光合成速度との間には有意な負の相関が認められた。その一方で、面積あたりの藻体重量と耐久性の指標である貫通荷重との間には有意な正の相関が認められた。この 2 つの相関は、生産性が高い藻体ほど薄く華奢で、生産性が低い藻体ほど厚く頑丈という、生産性と耐久性のトレードオフの存在を示唆している。また、多変量解析により、同一個体から取得した 4 つの形質間の関係を検討した結果、形質は相互に影響し合い、組み合わせの異なる形質間の相関関係を示す 4 本の軸は 1 本の軸に集約された。集約された軸の一方の端は光合成速度、窒素含量が高く、薄く華奢な藻体を持つ個体群および種が占め、もう一方の端は光合成速度、窒素含量が低く、厚く頑丈な藻体を持つ個体群および種が占めた。生産性と耐久性のトレードオフを背景として、コンブ目の生理生態形質が互に影響し合い、4 つの形質間の関係が集約された 1 本の軸は、維管束植物で報告されている leaf economics spectrum (LES) と類似のものと推察された。<sup>1</sup> 水産機構・日水研、<sup>2</sup> 水産機構・北水研、<sup>3</sup> 東京海洋大学

Li, X<sup>1,2</sup>・Pang, S. J.<sup>1,2</sup>・Ti F. Shan<sup>1,2</sup>：中国北部で現在養殖されているマコブにおける遺伝的多様性と個体群構造  
Xia Li,<sup>1,2</sup> Shao J. Pang<sup>1,2</sup> and Ti F. Shan<sup>1,2</sup> : Genetic diversity and population structure among cultivars of *Saccharina japonica* currently farmed in northern China

褐藻マコブの年間生産量の約 50%、湿重量で約 200 万トンが中国山東省、特に榮成市付近において養殖生産されている。表現型の特性（色、葉長など）を基に人為的に選抜された養殖系統株は、親株と近い関係性により引き起こされる近交弱勢という問題に直面している。したがって、養殖系統株の遺伝的多様性と品種間の関係性を明らかにする必要がある。15 の主な養殖場で使用されている品種を選び、7 つの主な種苗場からサンプリングし、15 のマイクロサテライトマーカーを使って解析した。全 94 アリルがすべてのサンプルで確認された。遺伝子座につき 3 から 7 個のアリルを有していた。全ての品種は比較的高い遺伝的な多様性を持ち、根井の遺伝的多様度指数 ( $H$ ) とシャノンの情報指数 ( $I$ ) はそれぞれ 0.466 と 0.862 であった。UPGMA デンドログラムでは、すべての品種が 3 つのメインクラスターに包含された。しかし、異なる種苗場由来の一般的に養殖されている 2 品種 (DB や BN) は、同じクラスターにはならなかった。代わりに、同じ種苗場由来の異なる品種が同じグループになる傾向があり、それらの高い相同性は種苗場内の品種間の遺伝的交流もしくは品種名の誤用により部分的に引き起こされていると考えられる。ベイズモデルを基にして表した遺伝的な解析は 3 つの主なサブグループ (LJ-202 と LJ-205, LJ-C033, XS-2 と XS-BN) と 1 つの混合したグループ (残りの 10 品種) のはっきりとした違いを明らかにした。我々の結果は、北部中国で養殖されているマコブのある品種間の曖昧な遺伝的な関係性を明らかにした。将来的には、より厳密で慎重な規制が育種や生産過程に応用されるべきだろう。(<sup>1</sup>Chinese Academy of Sciences, China, <sup>2</sup>Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, China)

遠藤光<sup>1,2</sup>・末廣健太郎<sup>1</sup>・高旭<sup>1,3</sup>・吾妻行雄<sup>1</sup>：褐藻アラメ幼体の生長と化学成分に対する夏季水温の上昇・栄養塩濃度・光量の複合的な影響Hikaru Endo,<sup>1,2</sup> Kentaro Suehiro,<sup>1</sup> Xu Gao,<sup>1,3</sup> Yukio Agatsuma<sup>1</sup>: Interactive effects of elevated summer temperature, nutrient availability, and irradiance on growth and chemical compositions of juvenile kelp, *Eisenia bicyclis*

生物の生長などの変量に対するある環境要因の影響が他の環境要因によって変化することを交互作用といい、その中でも影響が強められる場合を相乗作用、弱められる場合を拮抗

作用と呼ぶ。水温、栄養塩濃度、光量は、褐藻類の生長と化学成分に影響を与えることがよく知られている無機環境要因であるが、それらの間に交互作用があるか否かを検討した例は非常に少ない。本研究では、コンブ目褐藻アラメの幼体を培養し、4形質（湿重量、葉幅、葉長、葉面積）から求めた相対生長率と炭素・窒素・フロロタンニン含有量に対する夏季水温2段階（23°Cと26°C）・栄養塩濃度2段階（栄養添加区と無添加区）・光量2段階（180, 30  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）の複合的な影響を3元配置分散分析によって検証した。その結果、葉幅の相対生長率は水温と光量、湿重量の生長率は水温の影響を受けたが、葉長と葉面積の生長率では無機環境の有意な影響は検出されなかった。また、葉幅の相対生長率では水温と栄養塩濃度の間に有意な交互作用が検出され、水温上昇の負の影響は栄養塩濃度の低下によって弱められた（拮抗作用）。一方、炭素含有量に対する光量上昇の正の影響は、栄養塩濃度の低下によって強められた（相乗作用）。さらに、窒素含有量に対する光量上昇の負の影響は、栄養添加区では水温上昇によって弱められたが、無添加区では弱められなかった。炭素系二次代謝産物であるフロロタンニンの含有量は、栄養塩濃度の低下によって増加したが、光量の上昇によって増加しなかった。このように、水温、栄養塩濃度、光量はアラメの生長と化学成分に対して複雑な交互作用を示すことが明らかになった。（<sup>1</sup>東北大学、<sup>2</sup>現：鹿児島大学、<sup>3</sup>現：神戸大学）

### Metti, Y. : *Laurencia majuscula* var. *elegans* (Rhodophyta, Rhodomelaceae) を再び *Laurencia elegans* とする

Yola Metti: *Laurencia majuscula* var. *elegans* is reinstated to specific rank as *L. elegans*

*Laurencia majuscula* は最近、*L. dendroidea* と同種であるとされた。唯一、典型的ではない品種とされている *L. majuscula* var. *elegans* の分類学的な正しい位置を決定するために、ミトコンドリアの COI-5P および葉緑体上の *rbcL* 遺伝子の配列を分析し、その系統的な位置を推定した。その結果、*L. majuscula* var. *elegans* は常に、*L. dendroidea* のクレードとは明らかに異なるクレードを形成した。分子系統解析により、*L. majuscula* var. *elegans* には一般に長い枝を有する藻体と小型な藻体という2つの異なる形態があることが明らかになった。従来、小型な藻体は、その形態のみに基づいて異なる種として同定されている。しかし、今回の解析結果では、*L. majuscula* var. *elegans* が最も誤って同定されることの多いふたつの種、*L. nidifica* と *L. mcdermidiae* のトポタイプ（現地標識標本）の配列を含めた。*L. nidifica* は *L. majuscula* var. *elegans* と *L. mcdermidiae* とは異なることを示すクレードを形成したが、*L. majuscula* var. *elegans* に対する明らかな姉妹群を形成した。外部形態の比較も行い、*L. majuscula* var. *elegans* は、*L. dendroidea*, *L. nidifica*, *L.*

*mcdermidiae* とは形態的にも異なると結論づけられた。よって *L. majuscula* var. *elegans* は再び種レベルとして、*L. elegans* とすることを提案する。（National Herbarium of New South Wales, Royal Botanic Gardens Sydney, Australia）

### Pongparadon, S.<sup>1</sup> · Zuccarello, G. C.<sup>2</sup> · Prathep A. : タイ沿岸域に分布する *Halimeda macroloba* (Bryopsidales, Chlorophyta) の高い形態的な変異

Supattra Pongparadon,<sup>1</sup> Giuseppe C. Zuccarello<sup>2</sup> and Anchana Prathep<sup>1</sup>: High morpho-anatomical variety in *Halimeda macroloba* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Thai waters

*Halimeda macroloba* は、インド洋から太平洋の海域に広く分布し形態的な変異の大きい種である。連続する形態的な変異（16の外部の形態的な変異46及び解剖学的な形態の変異）と、葉緑体にコードされた *thfA* 遺伝子を比較することにより種内の形態学のおよび遺伝的な変異を調べ、タイ沿岸域における *H. macroloba* の種としての形態的な変異の境界を解明した。さらに、*H. macroloba* の特にハプロタイプI型の形態学的な変異に影響を与えていると思われる環境条件についての研究も行った。我々の結果は、*H. macroloba* が以前に考えられていたよりも多くの形態的・解剖学的な変異を有していることを明らかにした。それは、付着器のタイプ、連節部の形状や大きさ、異なるサイズの微細孔を有する節の高さ、最大で7層にもなる配偶体の表面に生じる配偶子囊の特徴などの変異である。そしてさらに、配偶子囊の形や縁辺部などに、新たに二つの形態的な変異があることがわかった。生育水深と光条件は藻体の形態に関係があり、大型で多数の節を持つ藻体やより多くの層を有する配偶子囊が生じる藻体は潮下帯に多く、小型の藻体は潮間帯が強光の場所に生育している。この形態的可塑性の高さは、なぜ本種がインド洋から太平洋において一般的で優占的な種であるかを示している。（<sup>1</sup>Prince of Songkla University, Thailand, <sup>2</sup>Victoria University of Wellington, New Zealand）

### Poong, S.-W.<sup>1</sup> · Lim, P.-E.<sup>1</sup> · Lai, J. W.-S.<sup>1,2</sup> · Phang, S.-M.<sup>1,2</sup> Tillmann, U.<sup>1</sup> · Akselman, R.<sup>2</sup> : 次世代シーケンシングの為に、微細藻類 *Chlorella* sp. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) からの高品質全 RNA 抽出法の最適化

Sze-Wan Poong,<sup>1</sup> Phaik-Eem Lim,<sup>1</sup> Jeannette W.-S. Lai<sup>1,2</sup> and Siew-Moi Phang<sup>1,2</sup>: Optimization of high quality total RNA isolation from the microalga, *Chlorella* sp. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) for next-generation sequencing

ハイスループット次世代シーケンサー（NGS）の到来は、遺伝子発現データの取得によるこれまで以上に包括的なトランスクリプトーム解析、そして機能解析とシステム生物学の為に代謝経路の理解を可能にした。NGS解析の成功には、高い純度、そして十分な品質と収量の完全なRNAの抽出が不

可欠である。緑色微細藻類において、核酸と共沈澱する脂質と多糖類の高濃度の混入は、核酸の抽出を阻害する為、結果的に核酸抽出の収量の減少と品質低下を生じさせる。本研究では、淡水産緑色微細藻 *Chlorella* sp. に対して、標準的手法と、異なる手法による細胞破壊と TRIzol 試薬または商業的に入手可能なキットとを組み合わせたプロトコールを実施し、後の NGS 解析で必要とされる厳格性を基準に比較した。プロトコールは、(i) RNA の収量、(ii) RNA の完全性数 (integrity number) と、(iii) A260/A280 比と、A260/A230 比に基づく RNA 純度で評価した。一般に、収量は、液体窒素による急速凍結とホモジェナイズによる細胞破碎の後の、TRIzol 試薬による溶解によって決まる。我々は、抽出 RNA の純度と完全性を高める為には、塩析沈殿のステップを組み込むことを勧める。この研究の結果は、最も関連した書籍が、詳細な全 RNA 抽出法を説明していないことや、より高価な手法 (例えば、ビースピーター) の使用を考慮すると、微細藻類から高い品質の RNA を抽出する研究者に対して、簡便で低価格の実用性ある手引きを提供することになるだろう。(12 University of Malaya, Malaysia)

**Xu, K.<sup>1,2</sup> · Li, Z.-K.<sup>1,2</sup> · Liu, S.-W.<sup>1,2</sup> · Qiu, B.-S.<sup>1,2</sup> : Taihu 湖から分離された 3 種のブルーム形成性シアノバクテリア種の生長と光合成に及ぼす鉄欠乏の影響**

Kui Xu,<sup>1,2</sup> Zheng-Ke Li,<sup>1,2</sup> Shu-Wen Liu<sup>1,2</sup> and Bao-Sheng Qiu<sup>1,2</sup>: Effects of iron deficiency on the growth and photosynthesis of three bloom-forming cyanobacterial species isolated from Lake Taihu

シアノバクテリアブルームは世界中の多くの淡水生態系において見られるが、環境因子がシアノバクテリアの生長や種組成へ与える影響の理解には、依然としてより多くの調査が必要である。本研究では、鉄欠乏に対する、ブルームを形成するシアノバクテリア *Microcystis aeruginosa* FACHB912, *Microcystis flos-aquae* FACHB1028, そして *Pseudanabaena* sp. FACHB1282 の生理学的反応を調査した。利用可能な鉄濃度の減少に伴い、個々の生長率の減少が見出された。利用可能な鉄の濃度が、 $1 \times 10^{-7}$  M (pFe 21.3), および  $5 \times 10^{-8}$  M (pFe 21.6) といった低い状況の時に、実験に供した 3 種間では、*M. aeruginosa* が最も低い生長率を示した。*M. flos-aquae* と *Pseudanabaena* sp. の細胞サイズは、最も低い鉄濃度下で、最も小さかった。3 種ともに、クロロフィル *a* 含有量は、鉄濃度が最も低い時に減少した。*M. aeruginosa* の最大相対電子伝達速度、光合成効率、そして光飽和パラメータは、鉄濃度 pFe 21.3 の時、他の 2 種のシアノバクテリアより低かった。したがって、*M. aeruginosa* は、比較した 2 種よりも鉄欠乏への順応能が低いことが示された。鉄欠乏下では、*M. aeruginosa* において、PSII の機能的吸収断面積および PSII の電子需要側の電子伝達速度は減少した。その一方、*M. flos-aquae* における個々の光合成ユニット間の接続率、および *Pseudanabaena* sp. における PSII の電子

需要側と PSII—PSI 間の電子伝達速度は増大した。鉄の蓄積能力は、*M. flos-aquae* が最も高く、*Pseudanabaena* sp., *M. aeruginosa* と続いた。実験に供した 3 種全てが、中国で 3 番目に大きい淡水湖である Taihu 湖から分離されたことから、本研究の結果は、Taihu 湖におけるシアノバクテリア種の遷移に対する鉄の役割について重要な情報を提供するだろう。(12 Central China Normal University, China)

**Patil, S.<sup>1</sup> · Pandit, R.<sup>1</sup> · Lali, A.<sup>1,2</sup> : *Chlorella saccharophila* の熱ストレスに対する光合成順化**

Smita Patil,<sup>1</sup> Reena Pandit<sup>1</sup> and Arvind Lali<sup>1,2</sup> : Photosynthetic acclimation of *Chlorella saccharophila* to heat stress

光合成はストレス応答のように藻類の最も重要な代謝プロセスの一つである。藻類の大量培養において、温度上昇や強光はバイオマス生産に影響を与える主な要因である。高温は不可逆的に光化学系 II に影響を与え、分子間相互作用にダメージを与える。しかし、光合成における高温のインパクトは異なる藻類の種間では非常に変わりやすく、それらが曝された環境条件よりも前の順化に依存している。順化は光合成反応の調節を通して、高温ストレスとやり取りをする際に重要な役割を果たす。クロロフィル *a* 蛍光は、光合成のパラメータを測定するためには非常に高精度かつ非破壊的で信頼性の高いツールであり、ある環境下での藻類の光合成活性について情報を得ることができる。強光に順化した *Chlorella saccharophila* の熱ストレスの影響を把握するために、40°C に曝した後にクロロフィル蛍光を測定した。本研究は、屋外培養の間のような短期間での温度上昇は、*Chlorella saccharophila* が順化した光環境において、PSII の効率に可逆的に影響を与えることを明らかにするものである。強光下 (最大  $1600 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) で生長した藻類におけるクロロフィル蛍光への熱ストレスの影響は本論文で示されており、72 時間後のそれらの回復だけでなく、それらが熱に曝されている間の光合成プロセスにおける変化を推定するために使われた。我々は、熱耐性が強光に曝されることにより獲得している可能性を示した。(12 Institute of Chemical Technology, India)

**ノート**

**平川泰久<sup>1</sup> · 中山卓郎<sup>1</sup> · Keilert, N.<sup>2</sup> · 石田健一郎<sup>1</sup> : 渦鞭毛藻における UhpC-type ヘキソーストランスポーターの進化**

Yoshihisa Hirakawa,<sup>1</sup> Takuro Nakayama,<sup>1</sup> Nadine Keilert,<sup>2</sup> Ken-ichiro Ishida<sup>1</sup>: Evolution of UhpC-type hexose-phosphate transporters in dinoflagellates

シアノバクテリアの細胞内共生により、植物を含むアーキプラスチダが一次色素体を獲得したのに対し、多くの藻類は二次色素体と呼ばれる複雑な色素体をもつ。これは紅藻や緑

藻が細胞内共生することで誕生した。共生者がオルガネラ化する過程で、宿主と色素体の間では、代謝産物やイオン、タンパク質などをやり取りする機構が進化した。一次色素体をもつ緑藻、紅藻、灰色藻では、光合成産物の輸送に関わるタンパク質として、原核生物由来の UhpC-type ヘキソーストランスポーターが報告されている。この UhpC-type ヘキソーストランスポーターは、シアノバクテリア起源ではなく、アーキプラスチダの共通祖先で、クラミジアに近縁なあるバクテリアから水平伝播により獲得されたと考えられている。これまで、二次色素体をもつ藻類では、UhpC-type ヘキソーストランスポーターに関する報告がなかった。本論文では、ゲノム配列やトランスクリプトームデータを用いて、多様な藻類で UhpC-type ヘキソーストランスポーターの探索を行った。著者らは、複数種の渦鞭毛藻が UhpC-type ヘキソーストランスポーターに相同な配列を持ち、他の多くの藻類はそれを欠くことを見つけた。分子系統解析の結果、渦鞭毛藻の配列は、アーキプラスチダからの水平伝播に由来することが推定された。多くの二次色素体をもつ藻類が UhpC-type ヘキソーストランスポーターを持たない理由としては、他の種類のトランスポーターの進化が考えられる。<sup>1</sup>筑波大学, <sup>2</sup>Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Germany)

武藤清明<sup>1</sup>・西川完途<sup>1</sup>・神川龍馬<sup>1,2</sup>・宮下英明<sup>1,2</sup>: 日本固有の両生類クロサンショウウオの卵に共生する単細胞緑藻。  
Kiyooki Muto,<sup>1</sup> Kanto Nishikawa,<sup>1</sup> Ryoma Kamikawa,<sup>1,2</sup> Hideaki Miyashita<sup>1,2\*</sup>: The symbiotic green alga in eggs of *Hynobius nigrescens*, an endemic amphibian of Japan.

一部の両生類において、孵化前の卵が緑色に色づくことが知られている。これは胚を包むゼリー層の中に緑藻が存在するためである。北米に分布する両生類に共生する緑藻はオオヒゲマワリ目 (Volvocales) に属する *Oophila* clade の緑藻であることが報告されている。しかし、他の地域でも同様に *Oophila* clade の緑藻が分布しているのかについては明らか

かにされていなかった。本研究では日本固有種であるクロサンショウウオの卵を互いに離れた5つの地点から採取し、その共生藻を対象に解析を行った。光学顕微鏡による観察でこの共生藻は細胞壁が厚く、細胞の表面に脈絡状の突起をもつ不動細胞が観察された。これは北米の両生類の卵から報告されていた *Oophila amblystomatis* と同じ特徴である。PCR-DGGE と 18S rRNA 遺伝子に基づく分子系統解析により5つの地点から採取された共生藻は同一の配列をもち、1個の卵の中では1種の緑藻が優占していることが明らかになった。これらの配列は *Oophila* clade の中で独立した単系統群を形成しており、これは *H. nigrescens* が独自の共生藻を持っていることを意味している。我々の結果は北米での先行研究に基づいたものであり、*Oophila* clade 共生藻と宿主両生類の間に特異的な共生関係があるという先行研究の結論を支持する結果が得られた。この研究は北米以外で共生藻-宿主両生類の関係についての初めての科学的な報告である。我々は今回の発見と共生藻を持たない *H. nigrescens* の卵の観察結果に基づき、共生藻の起源 (水平伝播か垂直伝播か) のいくつかの可能性について議論する。<sup>1, 2</sup> 京都大学大学院)

(阿部真比古, 木村 圭, 島袋 寛盛)



#### 英文誌 65 巻 2 号表紙

宮城県南三陸町志津川湾奥弁天崎沿岸のアラメ群落 (2014年12月26日)。Endo *et al.* はこの海藻に対する無機環境の複合的な影響について調べ、その結果を本号で公表した。