

高濃度ケイ素存在下で生じる単細胞性紅藻 *Galdieria Sulphuraria* のガラス化

及川 知穂 (筑波大学生物学類)

指導教員：蓑田 歩 (筑波大学生命環境系)

## 【背景・目的】

生物の中には、細胞の周囲にガラス状の構造を形成するものがある。例えば、ケイ藻や有孔虫は生物作用により微細構造を持つガラスの殻を形成する。他の生物にも、ストロマトライトに見られるようなガラス状構造を、細胞の周囲に形成するものがある。しかし、特に後者については、形成過程や生物学的意義などはほとんど分かっていない。実験室における細胞の周囲で生じるガラス化の再現は、これらを解明する手段となり得る。

単細胞性紅藻のイデユコゴメ綱でも、ガラス状構造の形成が知られており、イエローストーン国立公園や北海道のカムイワッカ滝などで観察例がある [1,2]。イデユコゴメ綱が生息する高温強酸性条件 (40°C、pH5 以下) では、一般に物質の溶解度が上昇する。ガラスの材料となる Si も、イエローストーンの温泉で数百～3400 ppm 程度の高濃度で存在することが報告されている [3]。Si の化学形態も酸性域と中性域で異なっている。したがって、イデユコゴメ綱では、中性で常温の環境下でガラス化を生じる生物とは、異なるガラス化機構が見出される可能性がある。

イデユコゴメ綱の中でも、*Galdieria sulphuraria* は実験室でガラス状構造を観察した報告がある種だ [4]。しかし、データの記載はなく、再現性についても不明である。本研究では、(1) 実験室で *G. sulphuraria* のガラス化を再現すること、(2) 高濃度の Si が *G. sulphuraria* の増殖に及ぼす影響について明らかにすること、を目的に高濃度の Si を含む培地での培養実験を行なった。

## 【方法】

## 培養

*G. Sulphuraria* を 40°C、独立栄養条件で 12 日間通気培養した。Si はメタケイ酸 ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) として添加した。Si 濃度が 0、1、10、35、70 mM の 2×Allen's (pH 2.5) を培地とした。対照実験として、細胞を含まない培地を入れた試験管を同条件で処理した。培養は濁度 ( $\text{OD}_{750}$ ) を測定し、増殖を評価した。

## 顕微鏡観察

Si 濃度が 0 mM と 70 mM の培養で、光学顕微鏡での観察及びレクチン-FITC を用いた蛍光顕微鏡観察を行なった。

## 呼吸活性及び光合成活性の測定

Si 濃度が 0 mM、35 mM、70 mM の培養について、培養開始から 5 日後に、酸素電極 (Hansatech, Oxytherm) を用いて 40°C における呼吸活性及び光合成活性の測定を行なった。

## 【結果】

高濃度の Si は *G. sulphuraria* の増殖を阻害しなかった

Si 濃度によって培養の増殖速度と最終濁度に変化しなかったことから、高濃度の Si が *G. sulphuraria* の増殖を阻害しないことが示された。培養開始後 5 日目に、酸素電極を用いて呼吸活性及び光合成活性を測定すると、いずれも Si 濃度に応じて濁度あたりの

活性が上昇した。

## 高濃度 Si 存在下で細胞塊が付着したガラス様粒子が生じた

培養開始から 5～6 日目以降、10 mM 以上の Si を含む培養で、透明～白色の粒子と細胞塊が混ざったような砂状の沈殿の形成を目視で観察した。沈殿を光学顕微鏡で観察すると、細胞塊が付着したガラス様粒子がみとめられた。SEM-EDX による予備的な分析では、ガラス様粒子の部分に Si と O が含まれていた。沈殿は細胞無しの試験管でも生じたが、培地の濁度には影響を与えなかった。

## 細胞塊が付着したガラス様粒子に多糖が含まれていた

蛍光顕微鏡観察を行なうと、Si 濃度が 0 mM の培養では、細胞の周縁部がグルコースやマンノースを認識するレクチンである Con-A-FITC の蛍光を示した。対して、Si 濃度が 70 mM の培養では、ガラス様粒子と細胞塊の間の部分が Con-A-FITC と他の 4 種類のレクチン-FITC の蛍光を示した。細胞無しの試験管で生じたガラス様粒子は、レクチン-FITC の蛍光を示さなかった。これらの結果から、ガラス様粒子と細胞塊の間に細胞由来の多糖が分泌されていると考えられる。

## 【考察・展望】

本研究では、高濃度の Si が *G. sulphuraria* の増殖を阻害しないだけでなく、呼吸活性と光合成活性を上昇させることが示唆された。現在、高濃度の Si 存在下で、栄養欠乏条件でも通常培養と同等の増殖が維持される結果を得ており、今後、呼吸活性及び光合成活性の上昇との関連を調べていく。

さらに本研究では、高濃度 Si 存在下におけるガラス様粒子の形成と、多糖を含む物質を介した *G. sulphuraria* のガラス様粒子への付着も観察した。細胞無しの条件では、ガラス様粒子は非生物作用により形成された。得られた結果から、*G. sulphuraria* が付着したガラス様粒子の形成について、次の 2 つの可能性を考えている。

- (1) *G. sulphuraria* がガラス様粒子の形成に影響する可能性
- (2) 非生物作用により形成されたガラス様粒子に、多糖などを介して *G. sulphuraria* が付着する可能性

上記の可能性について検討を進めるため、細胞の有無による沈殿の量の差を調べている。ガラス様粒子の成分の詳細についても、顕微ラマン分光法や X 線結晶構造解析、SEM-EDX などを用いて分析する予定である。

## 【参考文献】

- [1] J. J. Walker et al. (2005) *NATURE*, 434, p.1011 - 1014
- [2] R. Asada et al. (2001) *THE CANADIAN MINERALOGIST*, 39, p.1 - 16
- [3] J. J. ROWE et al. (1973) *UNITED STATES DEPARTMENT OF THE INTERIOR, GEOLOGICAL SURVEY BULLETIN*
- [4] W. Gross et al. (1998) *European Journal of Phycology*, 33, p.25 - 31