

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K14591

研究課題名（和文）謎の微化石「アクリターク」の起源生物の解明

研究課題名（英文）Macromolecular structures of modern and fossil acritarchs: Exploration of chemotaxonomic information

研究代表者

安藤 卓人 (Ando, Takuto)

秋田大学・国際資源学研究所・助教

研究者番号：30852165

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：過去の生態系記録を保持するアーカイブとして、堆積物コアや堆積岩がこれまで利用されてきたが、「アクリターク」とよばれる微化石は未だに起源生物がわかっていないため、軽視されてきた。本研究では、主に高分子構造解析を利用したアクリタークの新たな分類法を確立するために、現生・化石アクリタークの顕微赤外分光分析手法の開発と検討、標準試薬の熱熟成シミュレーション実験を行なった。その結果、現生アクリタークの多くは熱分解には強いが生物分解されやすい性質がある一方で、類似した形態をもつ化石アクリタークが中原生界堆積岩中に多くみつかることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国内で研究があまり進んでいない有機質微化石（パリノモルフ）のうち、起源が不明なアクリタークについて研究を進めた。アクリタークは原生界～完新統まで長く存在しており、その生態や環境応答を理解することは極めて重要であった。本研究では、特に現生アクリタークから多くの高分子データが得られ、化石アクリタークに応用していく足がかりができた。生体高分子分析技術については、他分野にも応用可能であると同時に、有機物に変換された大気CO₂を効率的に堆積物中に運搬する有機質微化石に着目することで、将来の生態系変遷、炭素循環への理解を進めることで、社会貢献が可能となることが明確になった。

研究成果の概要（英文）：Sedimentary cores and rocks have been used as paleo-archives to record the change in ecosystem in the past. However, organic microfossils called "acritarch" have been ignored due to that original organism is still unknown. In this study, to establish chemotaxonomical technique of acritarchs based on macromolecular analysis, we developed the method for micro-FTIR analysis of living and fossil acritarchs. As a result, we found most of living acritarchs decomposed by biodegradation rather than thermal maturation, although fossil acritarchs with the similar morphology are abundant in Mesoproterozoic sedimentary rocks.

研究分野：生物地球化学

キーワード：アクリターク パリノモルフ 有機質微化石 生体高分子 ジオマクロ分子 赤外分光分析

1. 研究開始当初の背景

アクリタークとは、形態情報のみからは起源が特定できない抵抗性高分子によって構成される有機質微化石(パリノモルフ)であり、「ゴミ箱行きの分類群 (waste-basket taxon)」とされてきた(図1)。アクリタークは、その性質上、いくつかの異なる生物群を含んでいるものの、最初の真核生物化石としても知られ、古生代前半に最盛期を迎えたとされる(e.g., Riegel, 2008)。その後はデボン紀末期で多様性が急減したが、一部の種は細々と大量絶滅事変の全てをやりすごし(e.g., van de Schootbrugge et al., 2007)、今も海洋表層堆積物から“現生”アクリタークが見つかる(e.g., Matsuoka and Ishii, 2018)。一方、層序的な利用価値が薄いことから、新生界~中生界堆積物・堆積岩中のアクリタークを扱った研究は極めて少ない。私たちの

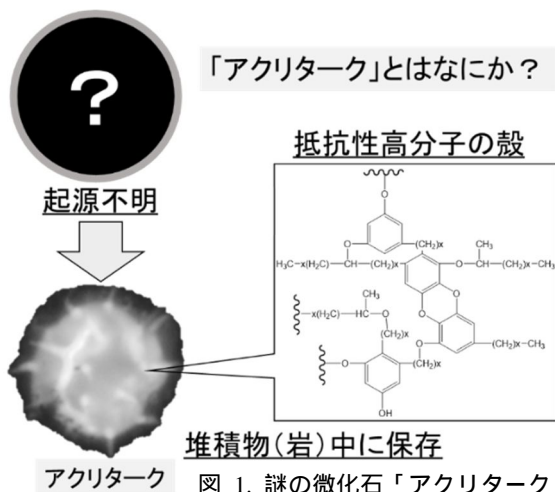


図1. 謎の微化石「アクリターク」

研究では、白亜紀海洋無酸素事変(Oceanic Anoxic Events; OAEs)時に、アクリタークのうち一部のグループのみが増加した証拠を発見した。**これらのことから、アクリタークの起源生物の一部は、先カンブリア時代から現在の非常に長い期間において、低次生態系のなかでも重要な位置づけにあり、地球の生物・生態系進化史を読み解くうえで欠かせない存在であるといえる。**

微化石の鑑定には通常、形態学的手法を用いることが多いが、アクリタークは形態的情報が乏しい。一部の現生アクリタークは休眠状態にあるため、古典的な手法では発芽実験が試みられてきたが、これまで成功例した例はない。近年、次世代シーケンサーの普及によって容易に遺伝子情報を取得できるようになった。これらの分子生物学的研究は渦鞭毛藻シストについては研究が進んでいるが(e.g., Mertens et al., 2015; Matsuoka and Head, 2013)、アクリタークに焦点はあてられていない。一方で、通常の保存状態の堆積物中では、DNAは数千年程度で分解してしまうため、これらの手法は現生種にしか適用できない。**化石種に対しては、高分子構造解析を用いて化学分類が行われつつある(e.g., Bogus et al., 2012)。**

このように、謎の生物「アクリターク」は、特に国内においてはほとんど対象とされてこなかった。本研究では最新の分析手法を駆使して、アクリタークをアクリタークではなくする。すなわち、形態情報以外から起源生物を理解し、アクリタークの再分類を行なう。そうすることで、過去の生物相・生態系像をより鮮明にし、生物の進化史に新たな知見を与える。

2. 研究の目的

現生アクリタークの高分子構造を解析、化石アクリタークに適用することで起源を推定する。そうすることで、生物・生態系進化史におけるミッシングリンクを埋めていくことができると期待される。

3. 研究の方法(図2)

アクリタークの形態的特徴で分けられたグループのうち、突起物があるAcanthomorph アクリターク(以下、Aアクリターク)と球状で突起物がないSphaeromorph アクリターク(以下、Sアクリターク)は長期間において堆積物(岩)から産出が確認されている。そのため、本研究では、現生種および化石種ともにこのAおよびSアクリタークのみを研究対象とする。これらは渦鞭毛藻シスト、プラシノ藻ファイコマ、繊毛虫シストのどれか

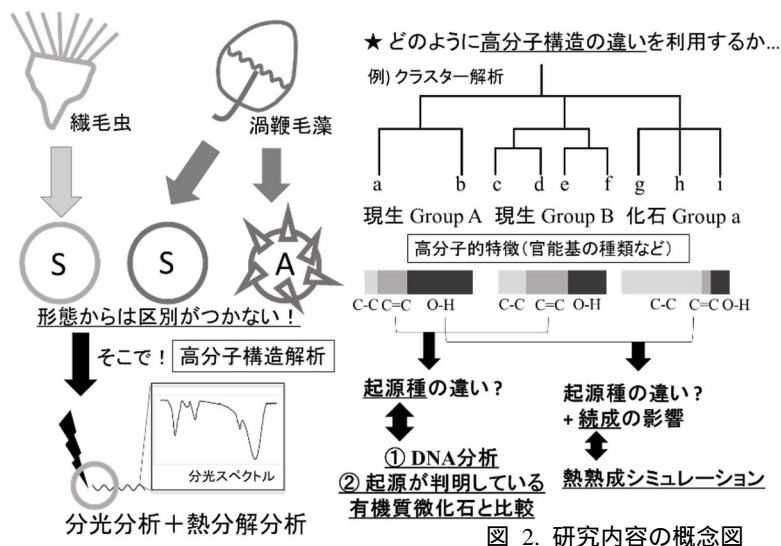


図2. 研究内容の概念図

である可能性が高い。また、現生種と化石種の高分子構造を比較するためには、堆積物中での続成過程を考慮する必要がある。特に現生種アクリタークの一部は、キチンやセルロースなどの多

糖類で構成されている可能性もあり、その場合は海水もしくは堆積物中の微生物分解によって分解してしまう。以上のことを考慮し、以下の3つの課題に分けて研究を行なった。

課題1「現生アクリタークの起源生物の推定」

堆積物中から現生アクリタークを分離し、有機質殻の高分子構造解析をすることで、アクリタークの起源種の特定制もしくは推定を行なった。

試料：島根県中海・宍道湖の表層堆積物試料、北西グリーンランド堆積物試料を用いた。

方法：酸処理と篩い分け後に得られたパリノモルフ中を micro-FTIR(顕微フーリエ変換赤外分光装置)で分析し、高分子構造を解析した。最終的に、これらを他のパリノモルフのデータと合わせてクラスター解析することで、起源となる生物群を特定・推定した。また、酸化還元環境など初期続成条件の異なる同一種アクリタークのデータも整理し、微生物分解等の初期続成での高分子構造の変化の理解を目指した。

課題2「熱熟成シミュレーションと化学分類法の開発」

熱分解シミュレーションを行なうことで、堆積岩中における高分子の熱分解過程を「再現」した。また、分解過程を考慮したモデルを構築し、現生種と化石種の高分子構造を対応できるようにする。

試料：セルロース・キチン・グルテンの高分子標準試薬を用いた。

方法：真空電気炉でそれぞれ熱熟成させた。micro-FTIR 分析で得られた赤外(IR)スペクトルから、熟成が進んだ化石アクリタークのももとの高分子成分を予測した。

課題3「化石アクリタークの分析」

堆積物(岩)中から分離した化石アクリタークの有機質殻の高分子構造解析を行ない、課題2の結果と比較することで、起源生物の推定を行なう。

試料：北西グリーンランド中原生界 Qaanaaq 層試料を用いた。

方法：micro-FTIR 分析で得られた化石アクリタークの IR スペクトルから、課題2で構築された熱分解モデルを駆使して起源の推定をした。

4. 研究成果

令和2年度は、“現生”アクリタークの検出を目標とし、島根大学・エスチュアリー研究センターの中海・宍道湖定期調査に同行し、堆積物の採取を行なった。堆積物表層からは複数種の現生アクリタークが確認され、特に中海では褐色・無色のSアクリターク、分類上はAアクリタークに分類されるが突起物が非常に短い *Micrhystridium ariakense* が多く観察された。美保湾周辺の堆積物にはその他のAアクリタークも観察されたが産出はまれであった。一方、赤外分光器やラマン分光器を用いた高分子分析については、前処理法の検討を主に行なった。特に現生アクリタークの有機質膜・殻の高分子を精度よく分析するためには原形質の除去が不可欠であった。また、化石アクリタークの観察・記載およびピッキングに有用な蛍光観察用のUV発生装置を購入した。

夏季に乗船予定であった IODP Exp.388「Equatorial Atlantic Gateway」が当面延期となり、同航海で採取された化石アクリタークを用いた研究は困難になったものの、現生アクリタークに関しては、中海・宍道湖から多くの種が観察できた。一方で、アクリタークの形態観察については、他のパリノモルフの形態観察に倣って行なう必要があり、共同研究者である長崎大・松岡 数充 名誉教授の指導のもと、顕微鏡観察法の習得をした。一方、高分子分析の前処理については、冷凍粉碎を数回行なうことで上手く原形質を除去できるが、膜や殻自体も壊れてしまうため、事前に形態を観察する必要があることが分かった。分析装置については、研究活動スタート支援「渦鞭毛藻赤潮指標の開発と堆積物への応用：赤潮発生メカニズムの解明研究課題」で検討を行なった顕微ラマン分光器、およびATR付き顕微赤外分光器が有用であることが明らかになった。

令和3年度は、令和2年度に引き続き、現生アクリタークの収集をするために、島根大学・エスチュアリー研究センターの中海・宍道湖定期調査に同行して堆積物の採取、広域調査では代表研究者が主体となり周辺河川の懸濁粒子の採取を行なった。また、継続して赤外分光器やラマン分光器を用いた高分子分析の前処理法の検討を行なった。原形質の除去やパリノモルフ表面のアモルファス有機物の除去が不可能であったが、超音波ホモジナイザーの導入によって、分離に成功している。加えて、Sアクリタークが主体であった約15億年前の真核生物進化の黎明期である中原生代のアクリタークについて、高分子分析による現生アクリタークとの比較を行なった。同時に、現生アクリタークと熱による続成過程を受けた化石アクリタークの高分子を直接比較するために、セルロース、キチン、グルテンを用いた熱熟成シミュレーション実験を行なった。表層堆積物中において中海でメジャーであった無色透明のSアクリタークについては、夏季の中海・米子湾奥部で懸濁粒子中に濃集していることが分かり、渦鞭毛藻などのシストであることが推測された。また、FTIR 分析とラマン分光分析から、これらのアクリタークは多糖類で構成されていることが明らかになった。

Aアクリタークの *Micrhystridium ariakense* については、白亜紀海洋無酸素事変 1a 層準で算出する *Lophosphaeridium* (Ando et al., 2022) と形態が類似しており、環境指標としての利用が期待できる。しかし、単離手法の開発は進んだもののルーチン分析にいたるには不完全であり、現生アクリタークのDNA分析は断念した。化石アクリタークとしては、グリーンランド北西部のQaanaaq層から産出した *Leiosphaeridia* や *Synsphaeridium* をはじめとした中原生界アクリタークのFTIR分析を行なうことにより、高分子成分を比較した。また、セルロース、キチン、グルテ

ンの真空電気炉を用いた熱分解シミュレーション実験を島根大学・三瓶 教授と共に進めた。これらの多糖類・糖タンパクは 250-300°C で大きく構造が変わるものの、熱分解生成物からも元の高分子構造が推定可能であることが分かった。

令和 4 年度は、これまで行なってきた顕微 ATR-FTIR 分析・顕微ラマン分光分析をルーチン化した。分析を進めた結果、特に極微小なアクリタークは、AOM (アモルファス有機物) と物理的に接着しているか、初期続成過程で複雑に化学反応をしており、既存の分析方法では高分子分析が難しいことが明らかになってきた。そのため、将来的なナノオーダーでの極微小領域での高分子分析を視野にいれ、電子顕微鏡下での観察用に前処理法の開発・検討を主に行なった。また、10 月に秋田大学・助教に所属が変更したため、新たに前処理・実験に必要な設備・消耗品を購入した。研究全体を通して、当初予定していた現生アクリタークの DNA 分析は行なえなかったものの、現生・化石アクリタークの鑑定基準を再整理し、顕微 ATR-FTIR 分析と顕微ラマン分析の手法を改良することで、アクリタークをはじめとしたパリノモルフの高分子分析法を確立できた。また、今後の研究に利用できる真空熱分解実験や無固定かつ形態情報を維持した状態において電子顕微鏡下で観察を行なう手法を検討することができた。

これらの成果について、国内外の学会で発表を行なうことができ、論文の執筆を現在進めているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ando Takuto, Sawada Ken, Okano Kazuki, Takashima Reishi, Nishi Hiroshi	4. 巻 586
2. 論文標題 Marine paleoecological variations during the mid-Cretaceous oceanic anoxic event 1a in the Vocontian Basin, southeastern France	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology	6. 最初と最後の頁 110779 ~ 110779
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.palaeo.2021.110779	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kazumi Matsuoka, Takuto Ando	4. 巻 28
2. 論文標題 Turbellarian egg capsule as one type of aquatic palynomorph; reconsideration of Tintinnomorph	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Laguna	6. 最初と最後の頁 15-35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 原 勇貴、安藤 卓人、沢田 健	4. 巻 37
2. 論文標題 グリーンランドの中生界堆積岩中の置換された第 4 級炭素原子をもつ 分枝脂肪族アルカン（BAQCs）： バイオマーカーか人為的汚染か？	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Researches in Organic Geochemistry	6. 最初と最後の頁 77-92
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 3件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Takuto Ando, Kazumi Matsuoka, Karin Zonneveld, Gerard Versteegh, Mika Ishigaki, Tatsuyuki Yamamoto
2. 発表標題 Macromolecules analyses of simple-shape cysts using ATR-FTIR and Raman spectroscopy
3. 学会等名 12th International Conference on Modern and Fossil Dinoflagellates (DINO-12) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takuto Ando, Koji Seto, Kota Katsuki, Yasuhide Nakamura, Sangyeob Kim, Shun Kawaida, Yoshiki Saito
2. 発表標題 Relationship between transportation and palynofacies/palynomorph assemblage of suspended sediments in the rivers around Lake Shinji and Nakaumi Lagoon
3. 学会等名 JpGU Meeting 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 卓人
2. 発表標題 分子化石と有機質微化石を用いた過去の水圏生態系応答の理解に向けて
3. 学会等名 第39回有機地球化学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 卓人, 瀬戸 浩二, 仲村 康秀, 香月 興太, 齋藤 文紀
2. 発表標題 中海・宍道湖に堆積する水生パリノモルフの多様性と古生態系指標としての利用
3. 学会等名 汽水域研究会2022年 佐賀大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 卓人, 松岡 数充, 石垣 美歌, 山本 達之
2. 発表標題 パリノモルフを構成する生体高分子の多様性と化石化
3. 学会等名 日本地球化学会第69回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 卓人, 原 勇貴, 沢田 健, 三瓶 良和
2. 発表標題 グリーンランド北西部の中原生界Qaanaaq層堆積岩中のアクリターク化石の化学分類学的研究
3. 学会等名 日本地質学会第125年学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 卓人, 仲村 康秀, 星野 洋輔
2. 発表標題 細胞壁由来の抵抗性高分子を用いた原生生物初期進化の解明へ向けて
3. 学会等名 第55回 日本原生生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 卓人, 原 勇貴, 沢田 健
2. 発表標題 中原生界アクリタークの起源生物についての形態学・化学分類学的再検討
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2022年大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takuto Ando, Kazumi Matsuoka, Koji Seto, Yoshiki Saito
2. 発表標題 Aquatic palynomorphs in Nakaumi Lagoon, Japan.
3. 学会等名 AASP-TPS 53rd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuto Ando, Tatsuyuki Yamamoto, Mika Ishigaki, Kazumi Matsuoka
2. 発表標題 Macromolecular analysis of aquatic palynomorphs using micro-Raman spectroscopy
3. 学会等名 JpGU Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤 卓人
2. 発表標題 ステロイドおよびパリノモルフを用いた古生態系復元
3. 学会等名 島根大学エスチュアリー研究センター・日本プランクトン学会 共催 秋季シンポジウム『プランクトンと古環境・古生態系復元』
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤 卓人, 仲村 康秀, 香月興太, 瀬戸 浩二, 齋藤 文紀
2. 発表標題 穴道湖堆積物コア中の水生パリノモルフを用いた古生態系復元.
3. 学会等名 第7回地球環境史学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤 卓人, 松岡 数充, 石垣 美歌, 山本 達之
2. 発表標題 渦鞭毛藻シスト壁を構成する高分子の有機地球化学研究とその意義.
3. 学会等名 第38回有機地球化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤 卓人
2. 発表標題 パリノモルフの種類と形態
3. 学会等名 第49回日本植生史学会談話会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤 卓人, 松岡 數充, 瀬戸 浩二, 齋藤 文紀
2. 発表標題 中海・宍道湖堆積物中の水生パリノモルフを用いた古環境指標の検討
3. 学会等名 第6回地球環境史学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安藤 卓人, 松岡 數充, 瀬戸 浩二, 齋藤 文紀
2. 発表標題 中海・宍道湖堆積物中における水生パリノモルフの分布
3. 学会等名 第28回汽水域研究発表会・汽水域研究会第9回例会・汽水域合同研究発表会2021, 松江市
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------