

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25550001

研究課題名(和文) 海洋溶存有機物中からの古細菌由来成分検出の試み

研究課題名(英文) Detection of archaeal components in marine dissolved organic matter

研究代表者

山下 洋平 (Yamashita, Youhei)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50432224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)： 海洋細菌由来の難分解性溶存有機物が海洋に普遍的に存在する事は広く知られている。一方、近年、海洋には古細菌が普遍的に存在し、その存在数は海洋細菌と同等である事が明らかとなった。すなわち、海洋細菌と同様に古細菌由来の難分解性成分が海洋溶存有機物中に普遍的に存在する可能性がある。しかし、古細菌由来の溶存有機物は検出されていない。

本申請研究では、海洋溶存有機物から古細菌特有の細胞膜構成脂質であるグリセロール・ジアルキル・グリセロール・テトラエーテル(GDGTs)を検出する事を目的とした。その結果、西部北太平洋および太平洋側北極海の表層から深層における溶存有機物画分からGDGTsが検出された。

研究成果の概要(英文)： Dissolved organic matter (DOM) in the ocean constitutes one of the largest reduced carbon pools in the global carbon cycle. Bio-refractory components of DOM (RDOM) are major fraction of DOM. Marine bacterial components were found in DOM and thought to be RDOM. Archaea has recently known to be widely distributed in the ocean. Thus, it can be hypothesized that archaeal components occur in the ocean as RDOM. However, there is no evidence about occurrence of archaeal components in DOM at present.

In this study, we tried to detect glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) that are components of archaeal lipids in marine DOM fraction. As a result, we detect the GDGTs from surface to deep DOM at the western North Pacific and the Arctic oceans. This finding implies that archaeal components occur ubiquitously in marine DOM.

研究分野：生物地球化学

キーワード：生物地球化学 海洋炭素循環 溶存有機物

1. 研究開始当初の背景

海洋には溶存有機物（孔径 0.2-0.7 μm の濾液中に存在する有機物, 95%以上は非生物態である）が普遍的に存在し、その存在量は全海洋で 662 PgC (Pg = 10^{15}g) と大気中の二酸化炭素量に匹敵する (Hansell et al., 2009, *Oceanogr.* 22, 202-211)。故に、海洋溶存有機物プールの消長が地球表層炭素循環に及ぼす影響は量的に重要である事が考えられる。しかし、そのプールが現時点において定常状態であるか、非定常状態であるかは分かっていない。海洋溶存有機物の 90%は難分解性成分により構成されるため、難分解性成分が海洋溶存有機物プールの消長を決定する。従って、難分解性溶存有機物の生成・維持機構に関する知見の集積は急務の課題である。

1995 年に海洋細菌の細胞膜構成成分が海洋溶存有機物中に普遍的に存在する事が田上らによって明らかにされ (Tanoue et al., 1995, *Geochim. Cosmochim. Acta* 59, 2643-2648)、その後、日本の研究グループの成果等によって、海洋細菌による難分解性溶存有機物生成が実験的および観測的に示された (Ogawa et al., 2001, *Science* 292, 917-920; Yamashtia and Tanoue, 2008, *Nature Geosci.* 1, 579-592)。これらの研究成果を基に海洋細菌が難分解性溶存有機物を生成し、海洋内部に長期間炭素を隔離する概念として、微生物炭素ポンプが提唱され (図 1 中の上のプロセス: Jiao et al., 2010, *Nature Reviews Microbiology* 8, 593-599)、その詳細な機構の解明を目的に多

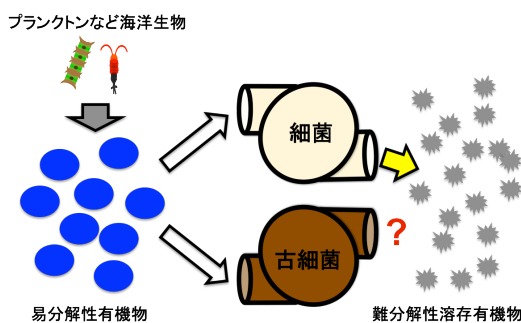


図1. 微生物炭素ポンプの概念図

くの研究が行われ始めている。

一方、近年、海洋には普遍的に古細菌が存在し、その存在数は海洋細菌と同等である事が明らかとなった (e.g., Karner et al., 2001, *Nature* 409, 507-510)。すなわち、海洋細菌由来難分解性成分と同様に古細菌由来の難分解性成分が海洋溶存有機物中に普遍的に存在する可能性がある (図 1 中の下のプロセス)。しかし、現在のところ、古細菌由来の溶存有機物は検出されておらず、古細菌由来の難分解性有機物が溶存有機物中に存在するかどうかは不明である。

2. 研究の目的

本申請研究では、近年、溶存有機物の濃縮方法として導入された新たな固相抽出法により、大量の海水試料から溶存有機物を濃縮し、その濃縮画分から古細菌特有の細胞膜構成脂質であるグリセロール・ジアルキル・グリセロール・テトラエーテル (GDGTs, 図 2) を検出する事を目的とした。

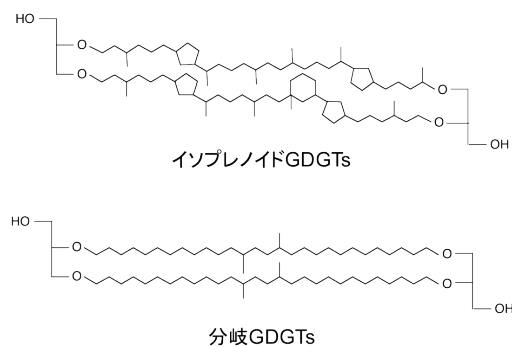


図2. 代表的なグリセロール・ジアルキル・グリセロール・テトラエーテル (GDGTs) の化学構造

3. 研究の方法

海水試料は西部北太平洋および太平洋側北極海から得られたものを使用した (図 3)。西部北太平洋の試料は、白鳳丸 (海洋開発研究機構/東京大学大気海洋研究所) KH-12-3 次航海によって、太平洋側北極海の試料はアラオン (国極地研究所所属) 航海によって、表層 5 m から深層 3000 m までの間で採取された。ニスキンボトルにより、採取

された海水試料 (～260 L) は、孔径 1.0 μm の濾紙を用いて濾過を行い、次いで孔径 0.2 μm の濾紙を用いて濾過を行った。濾紙は暗所・冷凍で保存し、粒子状有機物画分に存在する GDGTs 分析に供した。

溶存有機物画分である 0.2 μm の濾液 (20-40 L) は、塩酸を用いて pH = 2 に調整後、Dittmar et al. (2008, *Limno. Oceanogr. Meth.* 6, 230-235) に従い、固相抽出を行った。固相抽出後のカラムは暗所・冷凍保存し、陸上研究室に持ち帰った。

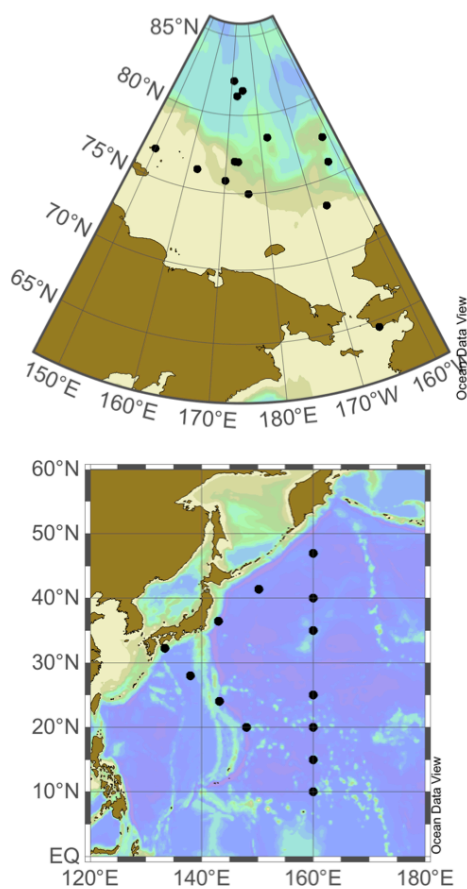


図3. 太平洋側北極海(上)と西部北太平洋(下)におけるGDGTs試料採取地点

陸上研究室にて、冷凍された固相抽出カラムは解凍し、窒素ガスを用いて乾燥させた。乾燥後、メタノールを用いて固相に吸着された有機物を溶出し、メタノール溶出液は窒素ガスを用いて乾固した。

濾紙に捕集された粒子状有機物、固相抽出後に溶出および乾固された試料は、Yamamoto and Polyak (2009, *Glob. Planet.*

Change 68, 30-37) に従い、抽出・精製し、GDGTs は高速液体クロマトグラフ-質量分析計を用いて同定および定量した。

4. 研究成果

西部北太平洋および太平洋側北極海の表層から深層におけるほとんどの溶存有機物試料から GDGTs が検出された。これらの事より、GDGTs が検出されなかった試料に関しても溶存有機物の濃縮率を上昇させる事により、検出できる事が考えられる。すなわち、本申請研究成果により、古細菌の膜脂質構成成分は海洋溶存有機物画分に普遍的に存在する事が考えられた。

溶存有機物画分中における GDGTs の鉛直分布パターンは有光層および有光層直下で高く、中深層で低い傾向にあり、西部北太平洋と太平洋側北極海の間で顕著な違いは見られなかった。

溶存有機物画分中の GDGTs 濃度と溶存有機物濃度を比較した。その結果、GDGTs 濃度は溶存有機物濃度と比較して、 $1/10^8 - 1/10^9$ 程度であると算出され、GDGTs は海洋溶存有機物の中で微量成分である事が分かった。

溶存有機物画分中の GDGTs 濃度と粒子状有機物画分 (>0.2 μm) 中の GDGTs 濃度を比較したところ、溶存有機物画分中の GDGTs 濃度は、粒子状有機物画分と比較して $1/10^2 - 1/10^3$ 程度である事が分かった。また、溶存有機物画分と粒子状有機物画分の GDGTs 組成を比較したところ、両者に顕著な違いは見られなかった。これらの事より、古細菌由来の GDGTs は、様々なサイズ画分に存在するが、吸着や相互作用の結果、粒子状有機物画分に多く存在する事が示唆された。

本申請研究では、溶存有機物画分中に古細菌の膜脂質に由来する GDGTs が存在するとの仮説を立て、研究を実施した。その結果、溶存有機物画分中から GDGTs を検出する事ができ、仮説が正しい事が分かった。GDGTs

の分布からは、海洋溶存有機物画分中に存在する GDGTs の分解性に関しては評価できなかった。しかし、海洋堆積物中に難分解な GDGTs が普遍的に存在している事を考えると、海洋溶存有機物画分中で検出された GDGTs に関しても難分解である可能性が高い。すなわち、本申請研究により、微生物炭素ポンプ (図 1) には、海洋細菌に加え、海洋古細菌も寄与している可能性が高い事が明らかとなった。また、海洋溶存有機物画分中に存在する GDGTs は微量成分である事が本申請研究から明らかとなった。しかし、海洋溶存有機物画分中における GDGTs の存在は、GDGTs 以外の古細菌由来成分が海洋溶存有機物中に存在する可能性を示す。今後、GDGTs 以外の古細菌由来成分を海洋溶存有機物画分から検出する事により、微生物炭素ポンプへの海洋古細菌の重要性を評価できる事が期待される。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

- ① Yamamoto, M., Ohira, F., Yamashita, Y., Nam, S.I. (2014) Fate of GDGTs in the marine water column. GDGT 2014 workshop. 24 April 2014, NIOZ Royal Netherlands Institute for Sea Research, Texel, the Netherlands.
- ② 山本正伸, 大平深史, 山下洋平 (2014) 海洋水柱懸濁粒子中のインタクト GDGT: TEX86 は何を示しているのか. 第 32 回有機地球科学シンポジウム, 2014 年 11 月 7 日, ニューウェルシティ湯河原, 湯河原町, 神奈川県.

[その他]

ホームページ等

<http://geos.ees.hokudai.ac.jp/yamashita/homu.htm>

1

6. 研究組織

(1)研究代表者

山下 洋平 (YAMASHITA, Youhei)

北海道大学・大学院地球環境科学研究院・
准教授

研究者番号：50432224

(2)研究分担者

山本 正伸 (YAMAMOTO, Masanobu)

北海道大学・大学院地球環境科学研究院・
准教授

研究者番号：60332475