

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22740351

研究課題名（和文） 顕微赤外分光法による先カンブリア時代微化石分類

研究課題名（英文） Classification of Precambrian microfossils using micro-FTIR spectroscopy

研究代表者

伊規須 素子（IGISU MOTOKO）

東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員

研究者番号：00518285

研究成果の概要（和文）：

顕微赤外分光法を先カンブリア時代微化石試料と現生微生物試料に適用した結果、次のことが明らかになった。脂肪族炭化水素(CH₂とCH₃結合)に着目すると、現生原核生物細胞、脂質はそれぞれドメインレベルで区別される。そのため、本手法は迅速かつ簡便なドメイン識別法として有用であることが期待される。また、約5.8億年前の微化石がこれまで形態的特徴によって決定されてきた分類以上に多様な生物を起源とする可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

We conducted micro-Fourier Transform Infrared spectroscopic measurements on extant and fossil microbes. IR signatures of aliphatic hydrocarbons (CH₂ and CH₃) in extant bacteria and archaea show domain-specific signatures, thus could be useful for fast and effective domain-level diagnosis of bacteria and archaea. Those in phosphatic embryo-like fossils suggest that these microfossils have more diverse origin than previously recognized on the basis of their morphology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：地球惑星科学・地球宇宙化学

キーワード：先カンブリア時代、微化石、顕微赤外分光法

1. 研究開始当初の背景

先カンブリア時代(約5.4億年以前)の微生物化石(微化石)の研究は地球の初期生命史を解明するための最も直接的な方法である。しかしながら、微化石はサイズが小さく、構造が単純で、多かれ少なかれ変質しているた

め、形態観察によって正確に分類することが一般に困難である。近年では局所分析法を用いた微化石の化学的特徴に関する研究が行われている。しかし、これまでの微化石の化学的特徴に関する研究では、その分類を特定する指標を得るに至っていない。

本研究では、顕微赤外分光法を用いた先カンブリア時代の微化石と現生原核生物の系統的解析を行い、先カンブリア時代微化石研究のための新しい手法開発と応用を目指した研究を行ってきた。これまでの研究結果から、原生代微化石から脂肪族炭化水素(CH₂結合とCH₃結合)が検出され、その吸収強度比(以下 R_{3/2} 値)に着目すると、原生代微化石中にバクテリア脂質の痕跡が選択的に保存されていることが示唆された。原核生物の2大ドメインであるバクテリアとアーキアでは細胞膜の脂質構造が異なることが知られている。そのため、脂肪族炭化水素鎖の構造を反映する R_{3/2} 値は原核生物のドメイン分類に有用であることが推測された。

2. 研究の目的

(1) 顕微赤外分光法により、現生の原核生物に加え、真核生物まで含めたドメイン分類が可能か調べる。

(2) 様々な年代の先カンブリア時代微化石の解析を行い、その分類を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 現生のバクテリア、アーキア、真核生物の顕微赤外分光分析を行う。各微生物試料の細胞と脂質を測定し、ドメインごとに固有な R_{3/2} 値を持つか検証する。真核生物では、先行研究において、先カンブリア時代微化石と形態的に比較されてきた緑藻や胚などを用いる。

(2) 先カンブリア時代微化石が含まれる岩石試料の薄片を作成し、光学顕微鏡観察により微化石の記載を行う。記載した微化石の顕微赤外分光分析を行い、脂肪族炭化水素の痕跡を探索する。脂肪族炭化水素が検出された微化石について、その R_{3/2} 値を求める。(1)で得られた現生微生物の R_{3/2} 値と比較し、微化石の起源を考察する。

4. 研究成果

(1) これまでに 21 種の現生原核生物と 4 種の現生真核微生物の顕微赤外分光分析を行った。試料は、生細胞、固定細胞、固定染色細胞、抽出脂質を用いた。その結果、全ての分析試料から本研究で着目する脂肪族炭化水素(CH₂結合とCH₃結合)が検出された(図1)。

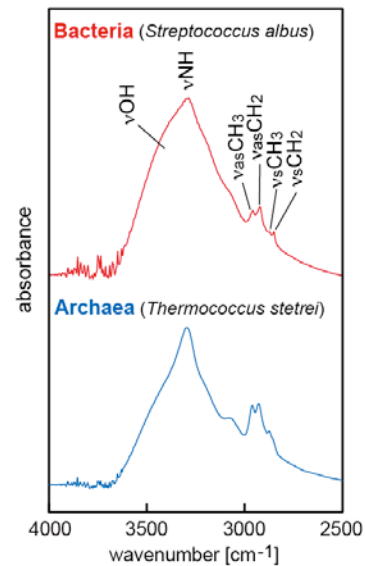


図1 バクテリア生細胞とアーキア生細胞の赤外透過スペクトルの例。図中に吸収帯の帰属を示す。解析に用いた脂肪族炭化水素(CH₂結合とCH₃結合)のピークを ν_{as}CH₂ と ν_{as}CH₃ で示す。

各試料の赤外吸収スペクトルから R_{3/2} 値を求めた。その結果から、次のことが明らかになった。

①バクテリア、アーキア、真核微生物の細胞、抽出脂質の R_{3/2} 値はそれぞれドメインに固有である。その大小関係は、細胞ではアーキア > バクテリア > 真核微生物、抽出脂質ではアーキア > 真核微生物 > バクテリアの順であった。バクテリアとアーキアの分析結果を図2に示す。

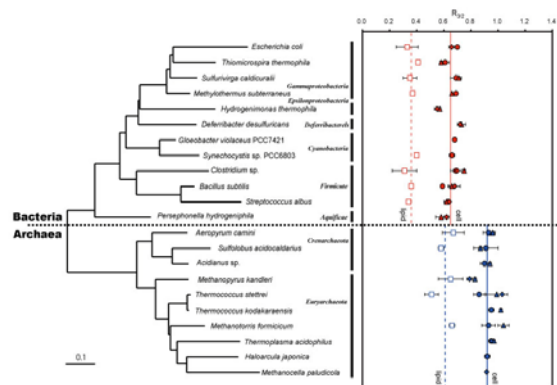


図2. 分析を行ったバクテリア、アーキアの16sRNA系統樹(左)と R_{3/2} 値(右)。○: 生細胞、△: 固定細胞、◇: 固定染色細胞、□: 脂質を表す。破線は脂質の平均値、実線は固定染色細胞の平均値を示す。

②固定、染色した後もバクテリア細胞、アーキア細胞、真核微生物細胞の $R_{3/2}$ 値は、生細胞のそれと同様の値を示す。すなわち、固定染色した細胞に対しても $R_{3/2}$ 値によりドメインを識別することが可能と期待される。

以上の結果は、本手法が現生の環境微生物生態にも適用可能であることを示唆する。しかしながら、バクテリアと真核微生物の細胞、抽出脂質の $R_{3/2}$ 値の差はどちらも小さいため、環境中の微生物試料において、 $R_{3/2}$ 値のみで3つのドメインを識別することは難しいと予想される。そのため本手法は現生の環境原核生物生態に対し、迅速かつ簡便なドメイン識別法として有用であると期待される。

(2) 南中国貴州省の瓮安地域から産出した約5.8億年前の最古胚化石を含む岩石試料の顕微赤外分光分析を開始した。光学顕微鏡観察により、岩石試料から少なくとも2種類の微化石を確認した。これらは、形態的特徴から、先行研究で動物の胚と解釈された微化石と類似する。

8個体の微化石の分析結果から、同地域の微化石は、いずれも脂肪族炭化水素 (CH_2 結合と CH_3 結合) と芳香族 $\text{C}=\text{C}$ 結合を含むことが分かった。微化石個体ごとに $R_{3/2}$ 値を求めたところ、形態的に同一でも、異なる $R_{3/2}$ 値を示す胚化石があることが明らかになった (図3)。

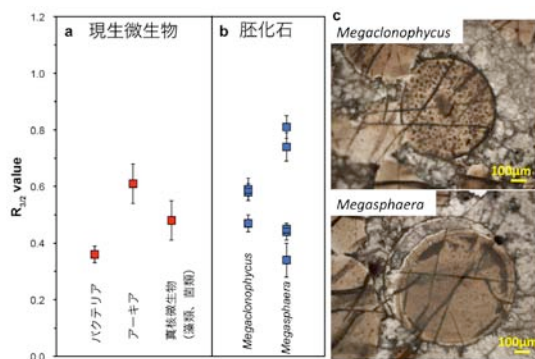


図3. 現生微生物脂質の $R_{3/2}$ 値 (a) と瓮安地域の微化石の $R_{3/2}$ 値 (b) と微化石 (*Megacolonophycus* sp. と *Megasphaera* sp.) の光学顕微鏡写真 (c)。現生微生物脂質の $R_{3/2}$ 値は (1) で得られた平均値を示す。瓮安地域の微化石は同一個体中で複数点の分析を行った平均値を各個体それぞれについて示す。

以上の結果は、瓮安地域の微化石が、形態的に類似していても、組成的には2種類以上に区別されることを示唆する。すなわち瓮安地域の微化石はこれまで形態的特徴によっ

て決定されてきた分類以上に多様な生物を起源とする可能性がある。胚化石と形態的に比較されてきた現生微生物の分析は現在進行中だが、今後、分析と解析を継続し、微化石から得られた化学指標の意義を考察することで、微化石の起源がより具体的に決定されることが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

① M. Igisu, K. Takai, Y. Ueno, M. Nishizawa, T. Nunoura, M. Hirai, M. Kaneko, H. Naraoka, M. Shimojima, K. Hori, S. Nakashima, H. Ohta, S. Maruyama, Y. Isozaki (2012) Domain-level identification and quantification of relative prokaryotic cell abundance in microbial communities by Micro-FTIR spectroscopy. *Environmental Microbiology Report* 4, 42-49. 査読有

② M. Igisu, Y. Ueno, S. Nakashima, S. M. Awramik, S. Maruyama (2011) Micro-FTIR spectroscopic imaging of 1900 Ma stromatolitic chert. In *Stromatolites: Interaction of Microbes with Sediments* (eds. V.C. Tewari and J. Seckbach), Cellular Origin, Life in Extreme Habitats, and Astrobiology, pp. 445-461, Springer. 査読有

[学会発表] (計4件)

① 伊規須素子、小宮剛、中嶋悟、上野雄一郎、丸山茂徳、南中国 Weng'an 地域から産出した微化石の顕微赤外分光分、日本地球惑星科学連合2011年大会、2011年5月24日、幕張メッセ

② M. Igisu, K. Takai, Y. Ueno, M. Nishizawa, T. Nunoura, M. Hirai, M. Kaneko, H. Naraoka, and S. Nakashima. Fast and simple domain-level diagnosis of prokaryotic cell in microbial community using micro-infrared spectroscopy, 2010 GSA Annual Meeting, 2010年11月1日, Denver

③ 伊規須素子、高井研、上野雄一郎、下嶋美恵、中嶋悟、太田啓之、丸山茂徳、磯崎行雄、顕微赤外分光法による化石・現生原核生物ドメイン識別の試み、日本地質学会第117年学術大会、2010年9月20日、富山大学

④ 伊規須素子、高井研、上野雄一郎、顕微赤外分光法による原核生物ドメイン識別の試み、第13回日本水環境学会シンポジウム、2010年9月8日、京都大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊規須 素子 (IGISU MOTOKO)
東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員
研究者番号：00518285

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし