

1. 研究実施計画

研究課題名：「微生物及び高等植物を対象とした放射線及び環境負荷物質の光合成機能に与える影響に関する研究」

研究機関名：独立行政法人放射線医学総合研究所

任期付研究員氏名：坂下 哲哉

1. 研究の意義、目的、必要性

環境ホルモンに代表されるように、今後の環境問題では、遺伝子、及び生体機能に与える影響を評価していくことが重要である。本研究では、生態系の底辺を支える1次生産者（微生物、高等植物）を対象を絞り、その重要な生体機能である光合成機能が環境有害因子によりどのように変化するかについて検討する。この研究により、環境有害因子の光合成機能に与える影響が、生物種間で異なるかどうかの知見が得られるだけでなく、将来、宇宙での自給自足生活を営むための基礎データとして利用することが可能である。

2. 研究概要

光合成の際に発生する炭素の同位体分別を、植物特有の糖分であるシュクロースに着目して調べる。人工大気を封入した密封容器の中で培養し、かつ各種の環境有害因子の負荷を与えた微生物の糖分を、抽出・分離し、質量分析計で $\delta^{13}\text{C}$ を測定する。環境有害因子に対する同位体分別の定量化を行い、最終的に、光合成機能に対する環境有害因子の影響を表現する数学モデルを構築する。

3. 研究目標

研究の各進展段階である、微生物及び高等植物を培養する閉鎖実験系の作成、炭水化物の抽出・分離、質量分析計による $\delta^{13}\text{C}$ 測定、数学モデルの開発を、研究目標とする。

2. 研究成果の概要

①研究成果

本研究では、光合成の機能（二酸化炭素の固定、酸素の生成、及び有用物質の生産）に関して高い能力を示すことが報告されている鞭毛藻類ユーグレナを、研究の対象微生物とした。ユーグレナは、自然光下での光の利用効率が、米国で栽培される作物の平均的な値である1.5%に比べて40%前後とはるかに高い値を示し、酸素の生成能力も、約 $80 \mu\text{l h}^{-1}$ (10^8 cells) $^{-1}$ とクロレラと同程度の能力を持ち、さらに、藻類の中でも特にEPA、DHAなどの有用不飽和脂肪酸を多く含む微生物である。また、様々な形で産業利用することが検討されており、例えば、宇宙空間での閉鎖系における二酸化炭素の固定と酸素の発生を担う微生物、あるいは養殖魚の餌としても注目されている。こうした特性をもったユーグレナに対する放射線や化学物質等の環境有害要因による影響を研究することは、光合成をエネルギー源とする生態系に及ぼす環境有害要因の危険度を評価し、適切な規制を行い、さらに、光合成機能を産業面で有効利用していく上で役立つと考えられる。

放射線の質の違いによる生物影響の比較には、生物効果比が用いられてきた。この生物効果比の標準放射線が、 ^{60}Co γ 線である。放射線を含む各種の環境負荷物質の影響を考えていく上で、まず ^{60}Co γ 線による影響から調べることにした。

ユーグレナの二酸化炭素を固定する機能への γ 線照射の影響に関して、比一次生産速度、及び二酸化炭素の利用効率の線量応答を調べた。比一次生産速度は、培地に添加された ^{14}C の取り込み率から求めた。通常、一次生産速度は個体数密度に依存した値となるため、線量により個体数が増える場合、個体数密度の違いを含んで評価することになる。そのため、個体数密度に依存しない比一次生産速度を用いることにした。また、カルビンベンソン回路における二酸化炭素の利用効率は、安定同位体比の測定値と光合成により炭素を固定する際の同位体分別値とからモデルにより推定した。ユーグレナへの0から500Gyの線量域での γ 線照射実験を行った結果、半数致死線量 (LD_{50} , 260Gy) まで比一次生産速度及び二酸化炭素の利用効率が維持された。しかし、 LD_{50} の約2倍にあたる500Gyの線量では、未照射ユーグレナが持つ値の約50%まで比一次生産速度及び二酸化炭素の利用効率が低下した。本知見は、半数致死線量を超える高線量域まで、二酸化炭素を固定する機能が十分機能している点を明らかにした点で重要であり、国際的に権威のある雑誌に投稿した。

酸素を生成する機能に関しては、直接光合成による酸素分圧の変化を測定することも可能であるが、酸素の分圧が大気で約20%と高濃度であるため、光合成による酸素分圧の変化を測定するためには、非常に高精度で高額な機器が必要である。一方、チラコイド内での水を分解し酸素を発生する反応に関与する光化学系IIでの電子伝達速度は、クロロフィル蛍光を測定することにより可能であり、海洋から陸上植物まで計測可能な機器が、酸素分圧測定機器の半額以下で市販されている。本研究予算にてこの機器を購入し、 γ 線を照射したユーグレナに適用した結果、500Gyを照射されたユーグレナにおいても未照射細胞の約80%の電子伝達速度が維持されていることがわかった。この知見は、Skorzynska-Politらが報告した豆科の植物にカドミウムを負荷した際の光化学系IIでの電子伝達速度の変化に関する研究結果と類似していることがわかった。本研究の成果は、日本保健物理学会にて発表し、高い評価を受け、現在投稿準備中である。

有機溶媒を用いて抽出し誘導体化した各種脂肪酸を本研究予算で購入したGCMSで

測定及び解析した結果、100Gyでは未照射ユーグレナの脂肪酸組成と比較し有意な差はみられなかったが、500、1000Gyの γ 線照射では、多不飽和脂肪酸が減少する結果が得られた。多不飽和脂肪酸は、葉緑体や膜の機能脂質として重要であり、特にエイコサペンタエン酸(EPA)は血栓症の抑制物質として、ドコサヘキサエン酸(DHA)は食物連鎖におけるより高次の生物の成長に関して重要な脂肪酸である。また、100Gyでは脂肪酸組成に γ 線照射の影響は見られなかったが、 ^{14}C をトレーサとして各種脂肪酸の生合成速度を調べたところ、総じて減少する結果が得られた。脂肪酸の生合成に関わる酵素の活性が低下していると予想されるものの、なお活性が維持されていることがわかった。現在、この成果を論文としてまとめている。以上、本研究により二酸化炭素の固定・酸素の生成・脂肪酸生合成の光合成機能に関して γ 線照射時の線量応答が評価できた。その結果、ユーグレナの二酸化炭素を固定する機能は、LD₅₀まで十分機能し500Gyで約半分に低下、酸素の生成に関しては500Gyで約80%の機能を維持、さらに、脂肪酸生合成に関しては100Gy程度までやや低下しつつも機能していることがわかった。

②波及効果、発展方向、改善点等

【波及効果】

当研究所では、生態系への影響を評価することを目的として、ユーグレナ、テトラヒメナ、イーコリの3種の微生物から構成される制御実験生態系が利用されている。ユーグレナは、この構成種のひとつであることから、本研究の成果がフィードバック可能である。

本研究を通じて、ユーグレナに γ 線を照射する研究を実施している大阪府立大学の古田博士と知り合う機会を得た。古田博士は、ユーグレナには、 γ 線照射により光合成の生産貯蔵物質であるパラミロンが増加する適用応答が観られたと報告している。このパラミロンと放射線照射時の膜の形態維持との関連付けが検討されており、本研究で得られた脂肪酸の生合成に関する知見とあわせることによりユーグレナの放射線抵抗性のメカニズムの一部を明らかにすることが期待される。

【発展方向】

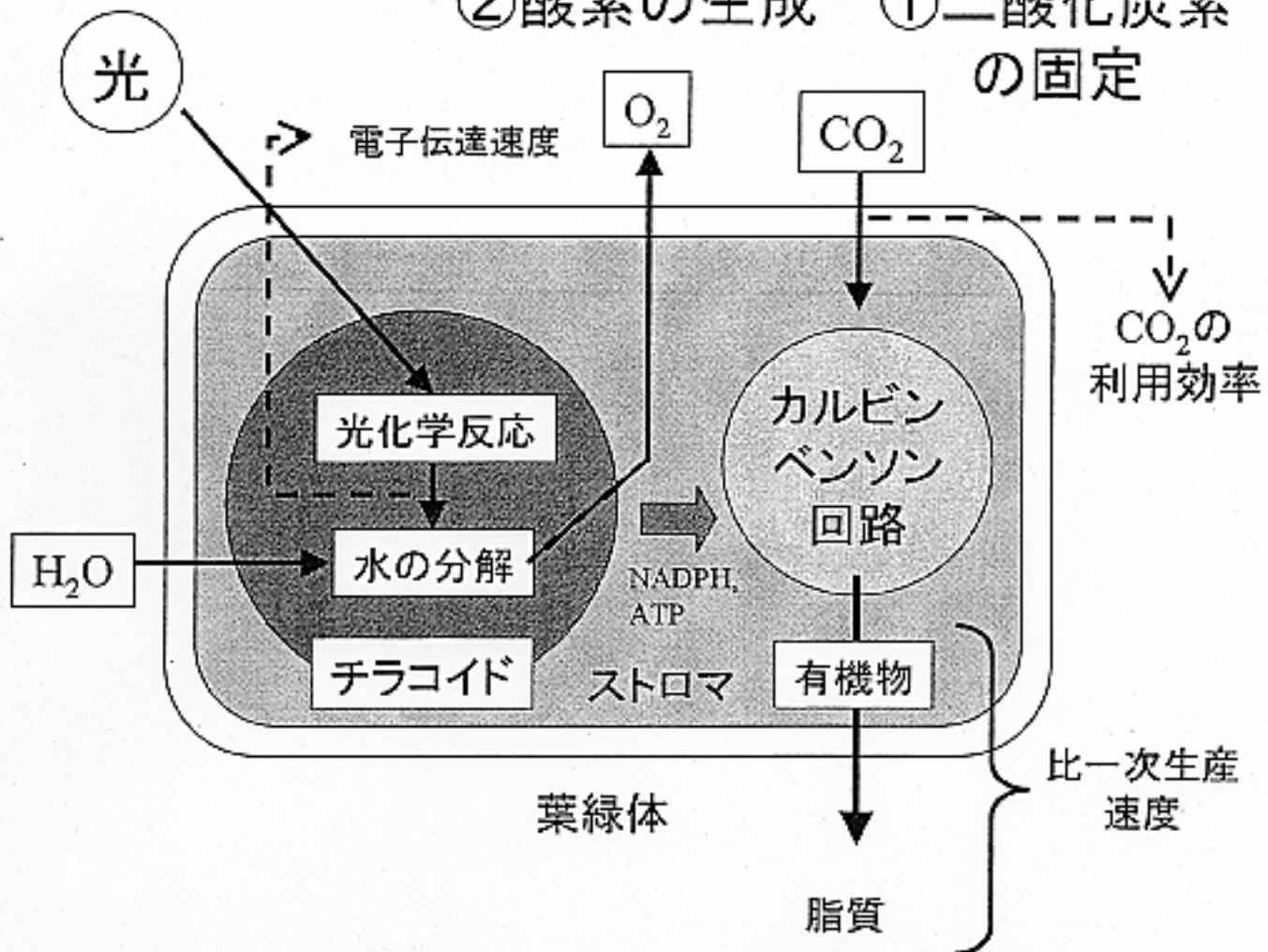
γ 線照射による光合成機能への影響を緩和するためのひとつの方法として、活性酸素の消去剤の添加が考えられる。放射線照射などの負荷を受ける細胞の光合成機能の回復がこの方法により可能かどうかの検討も有用かもしれない。

今後、他の生物種についても光合成機能への放射線照射の影響を調べる予定である。その際には、研究の対象とする生物種の地域代表性、その種の光合成色素などの生理的特性、及び遺伝的な系統の違い等を十分に検討する必要がある。また、重粒子線・紫外線・重金属・化学物質などが光合成機能に与える影響の評価に、本研究で用いた手法を適用し、将来的には作用の仕方の違い(メカニズム)を考慮した比較環境影響研究に発展させていくことを予定している。

放射線 (^{60}Co γ 線)

光合成の機能

②酸素の生成 ①二酸化炭素の固定



③有用物質の生産

応用

他の植物

重粒子線、紫外線、
重金属、化学物質