

海洋生物におよぼす紫外線の影響

3. エゾツノマタから得られた紫外線吸収物質 palythine の作用について

牧野 愛¹・鈴木 稔¹・矢部和夫²

¹北海道大学大学院地球環境科学研究科物質環境科学専攻(〒060 札幌市北区北10条西5丁目)

²北海道東海大学工学部海洋開発工学科(〒005 札幌市南区南沢5条1丁目1の1)

M. Makino¹, M. Suzuki¹ and K. Yabe² The influence of ultraviolet irradiation on marine organisms. 3. Effects of ultraviolet absorbing substance, palythine from *Chondrus yendoi*. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 47:173-177.

Effects of ultraviolet absorbing substance, palythine from a red alga *Chondrus yendoi* were investigated. Glass slides on which the spores of *Laminaria religiosa* had settled were immersed into seawater containing a definite concentration of palythine and irradiated with UV, then incubated at 10°C, 10L: 14D in a culture medium without palythine. Wet weight of young sporophytes on a unit area of each glass slide was measured two months after the UV irradiation. The results obtained shows that palythine dissolved seawater protected the development of gametophytes of *L. religiosa* from UV-B (320-280nm). The protective rate in 90 min and 120 min. from the UV irradiation were about 10.7, 13.3, 18.2, 34.3, 41.8 % and 13.8, 19.6, 29.4, 31.9, 39.7 % for 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05mM of palythine, respectively.

Key Index Words : *Chondrus yendoi-palythine-gametophytes-Laminaria religiosa-sunlamp-UV-B*

¹Division of Material Science, Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Sapporo, 060-0813 Japan.

²Department of Marine Sciences and Technology, School of Engineering, Hokkaido Tokai University, Sapporo, 005-8601 Japan.

はじめに

筆者らはすでに、Toshiba 健康線ランプと各種フィルターを使用した実験で、ホソメコンブ *Laminaria religiosa* Miyabe 配偶体の初期発生が UV-B で阻害されることを明らかにし (矢部ら 1996)、さらに UV-A および UV-B の照射を受けた紅藻の多くから 320-330 nm 付近に吸収極大を有する紫外線吸収物質 (mycosporine-like amino acids) が放出されることを確かめた (矢部ら 1997)。

Mycosporine-like amino acids は Fig.1 に示された構造を有する一群の化合物で、海洋動植物中に広く分布していることが知られるようになった。筆者らは、これらのうち palythine (λ_{max} 320 nm) と shinorine (λ_{max} 333 nm) を紅藻エゾツノマタ *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami から結晶として得ることができた。

本研究では、palythine を種々の濃度に溶解させた海水の紫外線防御効果をホソメコンブ配偶体の初期発生阻害防御率によって検定し、海藻から放出される紫外線吸収物質が沿岸域の海中生物にとっての紫外線フィルターとして機能する可能性について考察することにした。

材料と方法

Palythine の抽出および精製

1995年6月に釧路市桂窓にて採取したエゾツノマタを天日乾燥した後細碎し、その 1.6 kg を 60% メタノール 10 l に浸漬し、7-10 日抽出 (時々攪拌) した後、上澄を 40°C 以下の減圧下で濃縮する。途中析出した無機塩などを遠心分離で除去し、最終的にメタノール可溶性のシラップ (100 g) を得る。このシラップを水に溶かして遠心分離 (10,000 r.p.m., 20min.) にかけて、浮上した黒色粘稠の油状物を除き、下層の水層部を活性炭を用いたカラムクロマトグラフィーの試料として用いた。活性炭カラムクロマトグラフィーを繰り返し、粗結晶 617 mg を得た。この結晶は、ペーパークロマトグラフィーによって単一であることが確認された。

粗結晶はさらにメタノールで溶解し再結晶を行った。得られた結晶の, mp., は 156-158°C (dec.), 分析値は C:48.65, H:6.63, N:11.10 (C₁₀H₁₆N₂O₅ として C:49.17, H:6.60, N:11.43, O:32.75, 分子量 244)。¹H-NMR スペクトルは、Mycosporine-like amino acids に特異的なメト

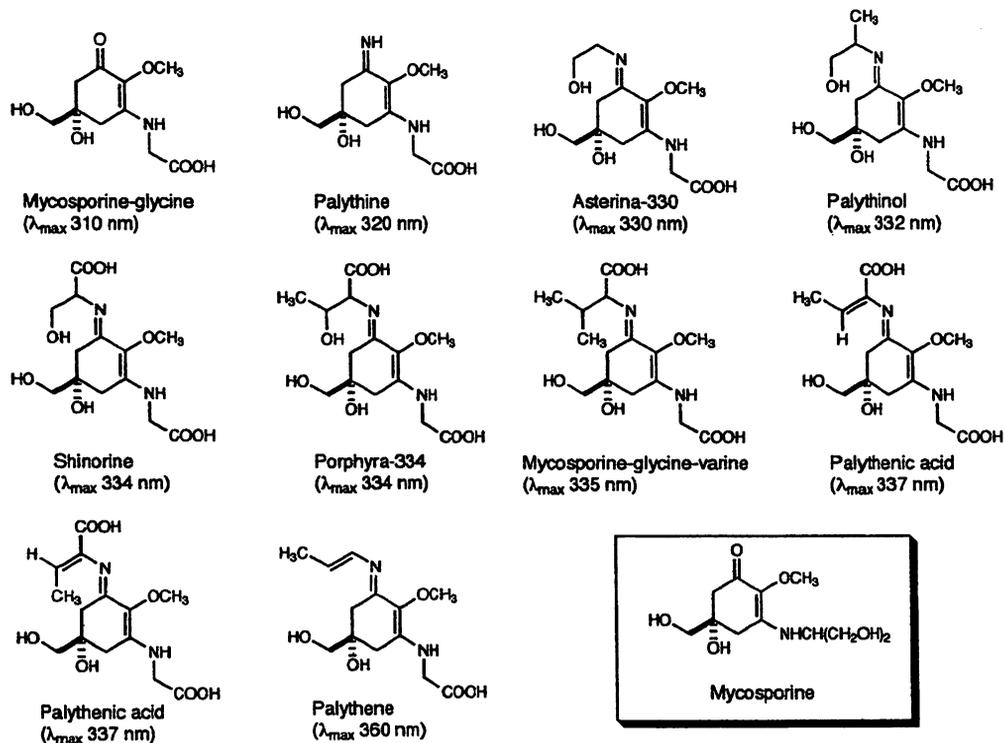


Fig.1 Chemical structure of Mycosporine-like amino acids.

キシル基 δ_H 3.47 (3H, s), ヒドロキシメチレン基 δ_H 3.85 (2H, s), カルボキシル基と窒素原子に挟まれたメチレン基 δ_H 3.85 (2H, s), および2つのシクロヘキセン環上のメチレン基 δ_H 2.62 (2H, AB-q)と δ_H 2.65 (2H, AB-q)のシグナルが観測された。この化合物はアカバギナンソウより単離されているpalythineと $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを比較し同一であった。

被検体の調整および紫外線照射

遊走子を得るためのホソメコンブ成熟藻体は、1995年10月から12月にかけて、小樽市祝津海岸において採集した。遊走子を着底させる基質として用意した半裁スライドガラス10枚づつを敷いた直径14.5 cmのペトリ皿に、およそ 2×10^5 cell ml^{-1} の濃度で遊走子を懸濁させた海水100 mlを注ぎ、暗所に一夜静置した。

一方、滅菌海水および0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mM濃度でpalythineを溶解させた滅菌海水10 mlをそれぞれ入れた直径5 cmのペトリ皿を用意しておき、その中に遊走子の着底した半裁スライドガラスを一枚づつ置いて、所定の紫外線照射を行った。同一の実験は5回繰り返した。光源としてToshiba健康線ランプを用いたことをはじめ、紫外線照射の諸条件は第一報(矢部ら

1996)に準じた。

遊走子の着底した半裁スライドガラスは、ペトリ皿内で深さ1 cmの海水の層を通して紫外線の照射を受けるように海水の量を調節した。Fig.3は、palythine濃度の異なる海水について、それぞれの1 cm層あたりの320 nmにおける紫外線の透過率を測定した結果を、palythine濃度と透過率との関係として表したものでありpalythine濃度0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mMに対して320 nmの紫外線の透過率はそれぞれ49.9, 21.4, 10.2, 7.0 および2.1%となることわかる。

Table 1 Amount of Damaging-UV (DUV) in the light supplied from a sunlamp and two fluorescent lamps covered with polyvinyl chloride sheet for 90 and 120 min.

Concentration of palythine	Energy on Damaging-UV (J/sqm)	
	Irradiation time	
	90min	120min
0.00mM	530	707
0.01mM	377	503
0.02mM	306	408
0.03mM	244	326
0.04mM	211	281
0.05mM	139	185

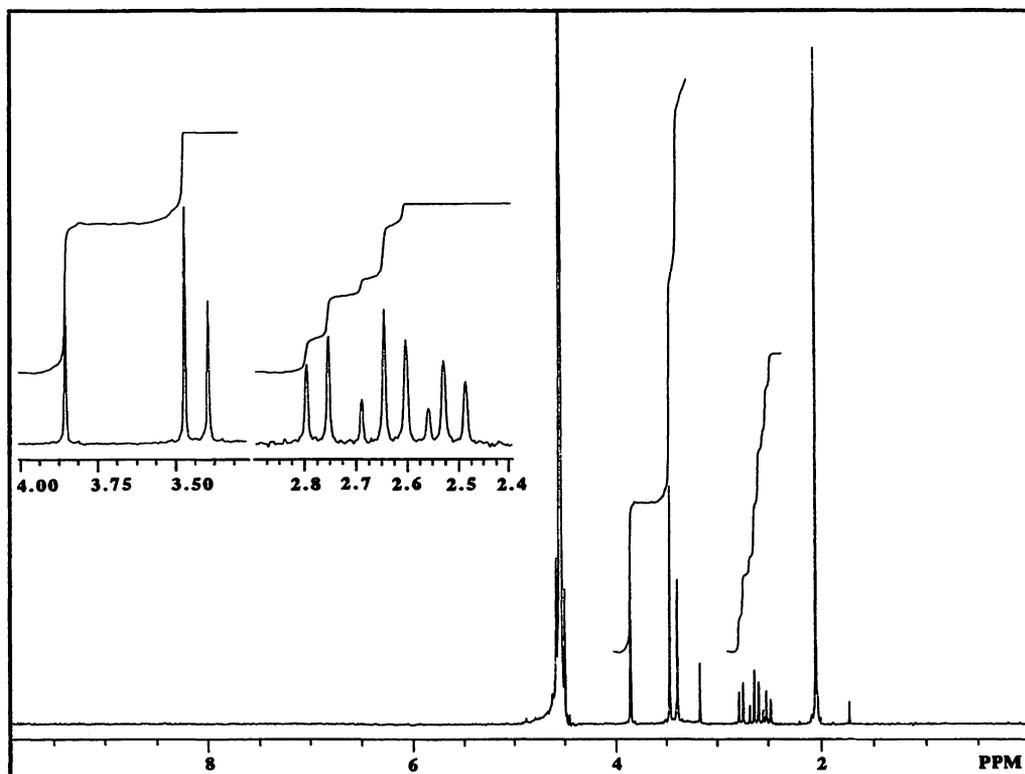


Fig.2 H-NMR spectrum of palythine.

落下細菌その他の汚染を避けるために実験容器上部を市販の塩化ビニリデンシートで覆い、直上 20 cm の位置に設置した Toshiba 健康線ランプと白色蛍光灯からの紫外線をペトリ皿内の半裁スライドガラスに照射した。照射時間は90分と120分の2通りとし、双方の場合についてpalythineの濃度ごとに海水の1cm層を通してスライドガラスに到達した紫外線の積算量をDUVエネルギー量に換算してTable 1に示した。

配偶体初期発生阻害率の検定

紫外線を受けた半裁スライドガラスをPESI (Kawasima 1984) 添加の滅菌海水に移し、2ヶ月間、10℃、10L:14Dで静置培養した。光源として白色蛍光灯を用い、光強度を20-25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に保ち、海水は毎週一回交換した。

培養開始時から2ヶ月後にはホソメコンブの幼孢子体が肉眼でも観察可能な大きさに生長していた。各実験区のスライドガラスについて無作為に選んだ部分から100 mm^2 あたりの幼孢子体をかき取って生産量を測定し、それぞれの値についてControl(紫外線照射を受

けなかったスライドガラス)の値との差を求めControlの値で除し100を乗じて配偶体初期発生の阻害率とした。

結果

ほぼ等しい濃度でホソメコンブの遊走子が着底した半裁スライドガラスをpalythine濃度が異なる海水の1cm層の下に沈め、紫外線照射をおこなってから、PESIを含む海水中で培養したところ、いずれのスライドガラス上にも長さ0.5 mm-2 mmの幼孢子体の生育してい

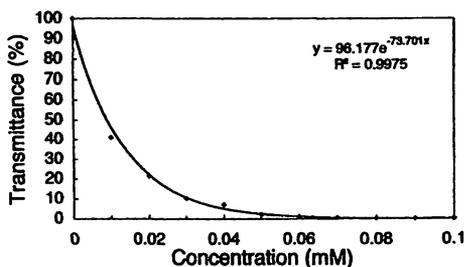


Fig.3 Relationship between molar concentration of palythine and transmittance at 320 nm.

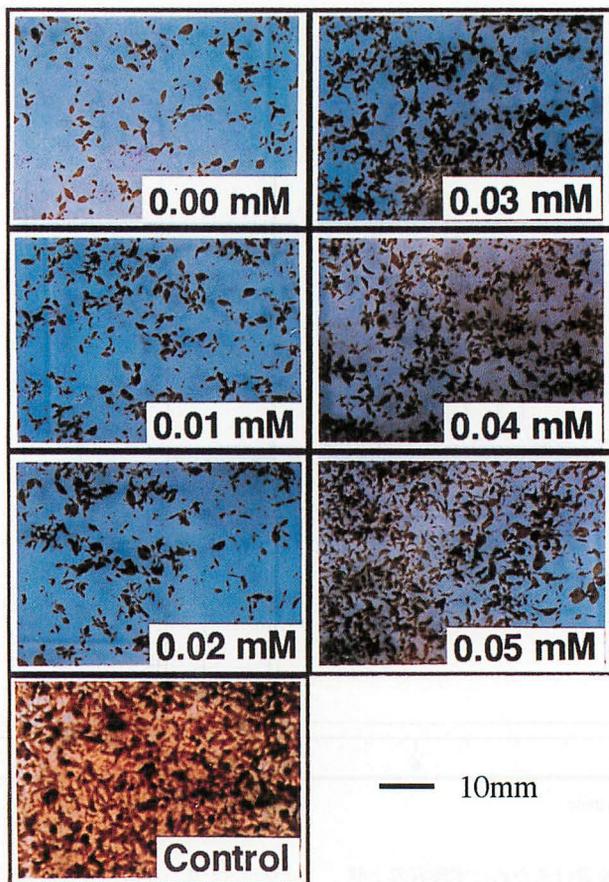


Fig.4 Young sporophytes of *L. religiosa* on the glass slides two months after the UV irradiation for 120 min.

ることが確認されたが、その密度には差があり、海水の palythine 濃度が低いほど幼胞子体の密度も低いという傾向が認められた。Fig.4 は palythine 濃度の異なる海水の中で 120 分間の紫外線照射を受けた後に 2ヶ月間培養された半裁スライドガラスの接写像をしめしている。紫外線照射を受けなかったスライドガラスを Control として併せて示したが、他のどのスライドガラスより幼胞子体の密度がはるかに高いことが明らかである。しかし紫外線照射を受けたスライドガラスでも、palythine 濃度が最も高い 0.05 mM から順次低くなるにつれて、幼胞子体の密度が漸減する様子は明らかに認められる。

Fig.4 は、それぞれの同一条件を与えられた 5 枚のスライドガラスのうちの幼胞子体密度が最も平均に近いものを選んで示したものであるが、Fig.5 は、各条件ご

との 5 枚のスライドガラスの幼胞子体量の平均値と Control の平均値とから求めた各条件ごとの「阻害率」を示したものである。遊走子の着底直後に行った紫外線照射の阻害作用は配偶体の初期発生段階に働いたはずなので、「阻害率」は「配偶体初期発生の阻害率」とみなせる。

紫外線照射は 90 分間と 120 分間の 2 通りとしたが、90 分間の場合は、palythine 濃度 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mM に対し、阻害率はそれぞれ 58.0, 51.8, 50.3, 47.4, 38.1, 33.7% となり、120 分間の場合は同じくそれぞれ 71.4, 61.5, 57.4, 50.4, 48.6, 43.0% となった。

さらに palythine 濃度 0.00 mM における阻害率と各濃度における阻害率とから阻害防御率を算出し、Fig.6 に示した。90 分間照射の場合、0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mM に対し 阻害防御率はそれぞれ 10.7, 13.3, 18.2, 34.3,

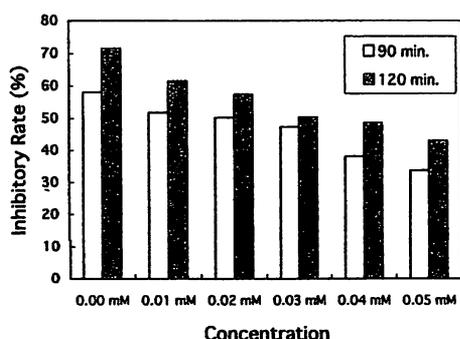


Fig.5 Inhibitory rates in the development of *L. religiosa* gametophytes determined for different palythine concentrations in seawater through which UV was irradiated. A value is the percentage of decrease in wet weight of sporophytes on 100 mm² of glass slide irradiated with UV to the control. The replication of experiments is five and each value in the figure is the average. Standard deviations were less than 20 % of each average.

41.8%となり、120分間照射の場合は同じくそれぞれ13.8、19.6、29.4、31.9、39.7%となった。

考察

多くの海産動植物から得られ、構造も決定されている mycosporine-like amino acidsは、近紫外部に吸収極大を有するため、生産者自身のUV-AおよびUV-Bによる損傷を防御する機能を有するものと推察された (Shibata 1969)。しかし現在に至ってもそれらの紫外線物質の役割は確認されていない。一方地球大気中のオゾン層の破壊は年々進行し、それに伴い地表に到達する紫外線量の増加は深刻な問題と化している。

海洋の沿岸域においても、潮間帯から潮下帯にかけての底生生物群集は、紫外線量の増加によって大きな影響を受けることが懸念されるが、前報 (矢部ら 1997) で示唆されたように紫外線量の増加は海藻による紫外線吸収物質の放出を促進し、それらが海中に溶出して結果的に沿岸域の生物群集を保護する可能性も存在する。本研究の結果は海中にエゾツノマタ藻体から海水中に溶出したpalythineが紫外線による海藻の生育阻害を防御する可能性を示唆するものと言えるが、実際に沿岸の海水中に存在する紫外線吸収物質の濃度測定や現場での底生生物の生育阻害防御の検定は今後の課題

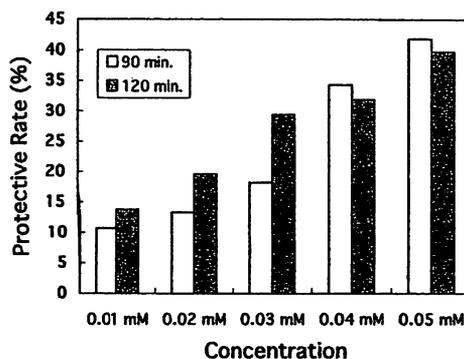


Fig.6 Protective effects of seawater containing palythine in different concentrations on the development of *L. religiosa* gametophytes from inhibitive actions of UV. A value is the percentage of decrease in inhibitory rate for a definite concentration of palythine to the inhibitory rate for 0.00 mM of palythine.

である。

謝辞

本実験への助言および各種スペクトルの測定を行っていただきました、北海道東海大学工学部生物工学科・竹内裕一教授ならびに適切な助言をいただいた東海大学総合科学研究所・佐々木政子教授に心より御礼申し上げます。

引用文献

- Kawashima, S. 1984. Kommbu cultivation in Japan for human foodstuff. *Jpn. J. Phycol* 32: 379-394
- Shibata, K. 1969. Pigments and a UV-absorbing substance in corals and a blue-green algae living in the Great Barrie Reef. *Plant and Cell Physiol.* 10: 325-335.
- 矢部和夫・牧野愛・鈴木稔 1996. 海洋生物におよぼす紫外線の影響 1. UV-B照射によるホソメコンブの配偶体の成長阻害. *藻類* 44: 139-144.
- 矢部和夫・牧野愛・鈴木稔 1997. 海洋生物におよぼす紫外線の影響 2. 紫外線が潮間帯産海藻の光合成および紫外線吸収物質に与える影響. *藻類* 45: 157-162.

(Accepted Sep. 29 1999)

