

## 平成 30 年度伊藤光昌氏記念学術助成金(研究助成)成果報告書

研究課題番号	H30-R5
研究課題名	海洋植物プランクトンによる海水中ヒ素のメチル化プロセスの解明
研究代表者	長谷川 浩
所属・職 (または学年)	金沢大学理工研究域物質化学系・教授

### 1. 研究目的

自然界においてヒ素には様々な化学形態が存在し、環境中に放出されたヒ素は大気、水、土壌と生物圏を循環している。環境水中において、ヒ素は主に無機ヒ素であるヒ酸 (As(V)) や亜ヒ酸 (As(III)) として存在する (Figure 1)。

植物プランクトンは、As(V) をリン酸と競争的に細胞内に取り込むことが知られている。As(V) は代謝の過程で As(III) に還元され、一部は毒性が比較的低い有機ヒ素化合物であるモノメチルアルソン酸 (MMA) やジメチルアルシン酸 (DMA) に変換され、細胞外に放出される。有機ヒ素への As(V) の変換量はプランクトンの種類や環境条件によって様々であるため、生育環境や生物種がヒ素の化学種変化に与える影響を個別に検討する必要がある。従来、湖沼における淡水植物プランクトンのヒ素代謝、および海洋における海水植物プランクトンのヒ素代謝は広く研究されているが、淡水と海水の交わる汽水域における研究報告は少ない。

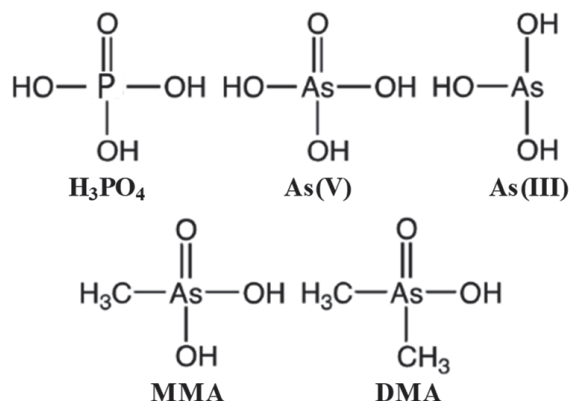


Figure 1. リン酸とヒ素化学種の化学形

本研究では様々な塩分度で5種類の淡水植物プランクトンの無菌培養を行い、リン酸とヒ素の濃度比を制御した条件下で培地中 As(V) の化学種変化を観測し、特に、塩分度がヒ素化合物の代謝へ与える影響や淡水植物プランクトンのヒ素代謝の多様性に関して解明を試みた。

### 2. 方法

#### 1) 植物プランクトンの培養

植物プランクトン株として国立環境研究所より入手した緑藻類の *Botryococcus braunii* (NIES2199), *Pediastrum duplex* (NIES214), *Scenedesmus. acutus* (NIES2269), 車軸藻類の *Staurastrum paradoxum* (NIES528), *Closterium aciculare* (琵琶湖より単離, 広島県立大学内藤博士により提供) を用いた。リン酸 1.0 μM 及び 20 μM, As(V) 0.1 μM, 塩分度 0-5% (人工海水 (35%) により調整) に改変した C 培地中で 2 週間培養した後、ガラスフィルターを用いて試料水とプランクトン試料を分別して保存した。プランクトン数及び細胞の形状は分光光度計とマイクロスコープ (キーエンス) を用いてそれぞれ求めた。

#### 2) ヒ素化学種のスペシエーション分析

培地中のヒ素種の定量には水素化物発生装置とコールドトラップを組み合わせたフレーム原子吸光度計 (CT-HG-AAS, 170-50A Atomic Absorption Spectrophotometer, 日立) を用いた (Figure 2)。細胞内の全ヒ素の定量には誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS, SPQ9000, セイ

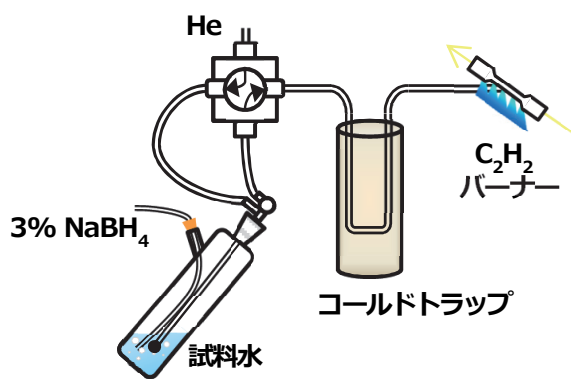


Figure 2. 還元気化原子吸光分析装置

コー)を用いた。

### 3. 研究成果

実験室で生育環境を制御して培養した淡水植物プランクトンの生長及び細胞の形状に対する塩分濃度の影響を観察した。全てのプランクトン種において塩分濃度の上昇とともに生長が阻害されたが、塩分濃度への耐性は淡水植物プランクトンの種類によって大きく異なることが分かった。例えば、淡水植物プランクトンの *P. duplex* は塩分濃度増加の影響を強く受け、塩分濃度 1% においては浸透圧により細胞が膨張し、2% 以上では細胞分裂及び代謝が阻害されて生長速度が大きく減少した。一方、*S. acutus* については、塩分濃度が 5% を超えても生長量にも細胞の形にも大きな影響を及ぼさなかった。

ヒ素の生体内濃縮について塩分濃度の影響を検討した結果、対塩性が低い *P. duplex* は塩分濃度によらず、取り込んだヒ素種を細胞内に蓄積せずに細胞外へ放出した。一方、対塩性が高い *S. acutus* は、塩分濃度が高くなると細胞内にヒ素種を蓄積した。一般に、淡水植物プランクトンは、細胞内に取り込んだヒ素を比較的速やかに放出することが報告されている。本研究では、*S. acutus* のように培地中における塩分濃度の上昇に伴い、細胞内にヒ素を取り込み蓄積する種が複数存在することを見い出した。

培地中のヒ素スペシエーション組成については、*P. duplex* の培養において著しいメチルヒ素種の

生成が確認された。培養条件： $[\text{PO}_4^{3-}]_0 = 0.1 \mu\text{M}$ 、 $[\text{As(V)}]_0 = 0.1 \mu\text{M}$ 、塩分濃度 2% の培養条件において、7 日目から As(V) は As(III) に還元され始めて As(III) が 2 割程度まで上昇するが、その後 As(III) は減少し、21 日目には DMA が培地中ヒ素の 8 割を占めるまで増加した。DMA へのメチル化について、対数増殖期の最終段階においてヒ素メチル基転移酵素の機能が大きく発現する可能性が高い。

更に、*P. duplex* 及び *S. acutus* について塩分濃度を 0-5% に変えて 14 日間培養した結果、*P. duplex* の培養では塩分濃度が 1-3% で還元メチル化が進行し、塩分濃度 2% で 33% の As(V) が DMA に変換された。4-5% では As(III) への還元も進行しなかったことから、特定の塩分濃度において As(V) の還元メチル化が促進されることが分かった。一方、*S. acutus* については、As(III) への還元のみが進行し、DMA は生成しなかった。

植物プランクトンの培養において、試料水に溶解するリン酸に対して As(V) の存在比が増加すると、As(V) 取り込み量が増加し、As(III) への還元反応が進行することが報告されている。リン酸と As(V) はともにリン酸トランスポーターを經由して取り込まれると考えられている。そこで、As(V) の初濃度を 10 倍の  $1.0 \mu\text{M}$  にして 14 日間培養した結果、どちらのプランクトン種においても、塩分濃度が上昇するに伴って淡水植物プランクトンの還元力が低下し、As(III) の生成量が減少することが明らかとなった。

以上、本研究では、淡水植物プランクトンの培養において耐塩性や As(V) の取り込み及び化学種変換に関する挙動を明らかにした。*P. duplex* は、特定の塩分環境において生体内で As(V) を As(III) 及び DMA に変換する一方で、還元メチル化をする能力を持たない淡水植物プランクトンも存在した。湖沼や河川よりも塩分濃度変化が大きい汽水域においては、淡水植物プランクトンの As(V) 代謝は特に多様であることが示唆される。