

後生動物 *Aeolosoma* による必須脂肪酸合成能の検討

東北大学工学部	学生会員	○関谷	大河
東北大学大学院工学研究科	学生会員	林	恭平
東北大学工学部・工学部技術部		田中	伸幸
東北大学大学院工学研究科	正会員	野村	宗弘
東北大学大学院工学研究科	正会員	西村	修

1 はじめに

湖沼などの閉鎖性水域内において後生動物が体外から取り込む必要のある必須脂肪酸（EFA: essential fatty acid）は、主として藻類が合成していると考えられてきた。しかしながら、活性汚泥や一部閉鎖性水域では藻類が優占化せずに、細菌を起源とする食物連鎖網が形成されている¹⁾。例えば、活性汚泥においては、光合成に必要な太陽光を十分に得ることができないため、藻類の増殖が進みにくいと考えられる。つまり、このような環境下では、藻類が優先しない、あるいは存在しないため EFA 供給が損なわれると考えられる。また、閉鎖性水域において、季節による温度変化や地理的な要因によって藻類の活動が困難な条件下では、メタン酸化細菌（MOB: Methane-oxidizing bacteria）による生産活動がその当該地域の生産者として貢献している例¹⁾がある。

以上のように、藻類の生産活動が欠如している環境においても生態系を維持している事例は散見される。後生動物の安定的な生存・繁殖に EFA は欠かせないことから、このような藻類による EFA 供給が期待できない環境では、藻類以外の生物による EFA 供給が行われている可能性が考えられる。また、昨年の研究において、EFA 合成しないと考えられていた原生動物のうち、活性汚泥中によく見られる種である *Cyclidium*, *Glaucoma* について EFA 合成していることが明らかになった²⁾。

本研究では、昨年の研究結果を踏まえ、原生動物より高次の後生動物が上述のような藻類が優先しない環境において、安定的に生存・繁殖し、EFA 供給者としての機能を有しているという仮説を立てた。これより、研究目的を「細菌を起源とする食物網において、後生動物が安定的に生存・繁殖を繰り返し、EFA を自ら合成し、生態系に EFA を供給するポテンシャルを有するか否か確かめる」ことと定め、活性汚泥中に見られるアブラミミズ

キーワード：必須脂肪酸 エアロゾマ 食物網

連絡先：宮城県仙台市青葉区荒巻宇青葉 6-6-06

(*Aeolosoma*) を用いて室内実験を行った。本実験では植継を行い、初期の培地における脂肪酸濃度を薄くした状態で EFA がどの程度検出されるか脂肪酸分析を用いて確かめた。特に $\omega 3$ 系列の脂肪酸、 $\omega 6$ 系列の脂肪酸を生合成するために必要とされているリノレン酸（18:3 $\omega 3$ ）、リノール酸（18:2 $\omega 6$ ）に着目し、分析を行った。

2 研究方法

(1) *Aeolosoma* の必須脂肪酸合成に関する室内実験

本実験では東北大学工学部環境生態工学研究室にて、継代培養されている後生動物、*Aeolosoma* を用いた。この培地（AE 培地）には EFA が含まれるため、無機培地（ABD 培地）に植継ぐことで希釈した。まず、後生動物のいる培地から 50ml 取り、必須脂肪酸を含まない無機培地に 150ml 添加した。そこに必須脂肪酸を含まない後生動物の餌となる細菌（*Alcaligenes faecalis*）懸濁無機培地 50ml を添加し、計 250ml で培養した。これらを 3 系作成した。これらの作業はクリーンベンチで行った。

(2) 後生動物個体数密度の測定

植継の段階、また個体数が順調に増加しているか確認するため顕微鏡（OLYMPUS BX53）を用いて測定した。毎回 10ml 各実験系から取り、1ml をプランクトン計数用のプレパラートに乗せ、計 5 回測定した。

(3) 脂肪酸分析

脂肪酸の抽出には One-step method³⁾を用いた。はじめに、ろ過後に凍結乾燥したサンプルの入った遠沈管に、内部標準としてトリコサン酸をヘキサンに溶かしたもの 1ml、ヘキサン 4ml、BF₃ メタノール 2ml を入れ、温度条件 100℃、反応時間を 2 時間としてウォーターバス内で反応させた。室温で冷却後、ヘキサン 1ml、純水 2ml を入れよく攪拌した後、遠心分離器を用いてヘキサン層アルカリゲネス ファカリス

東北大学工学部環境生態工学研究室 022-795-7474

を回収した。この回収した脂肪酸を含むヘキサンをキャピタリーカラム(Agilent 社, SelectFAME, 0.25mm, 100m)を装填したガスクロマトグラフィーで分析した。分析条件は 150℃5min, 150-230℃/min, 230℃10min, 230-250℃-4℃/min の昇温プログラムで、キャリアーガスにはヘリウムを用いた。標準物質としてスペルコ社製の spelco37 を用いてリテンションタイムから脂肪酸の同定を行った。添加した内部標準の面積比より各脂肪酸の含有量を計算した。

3 結果と考察

(1) 原生動物個体数密度

3 系列ともに 1 回目の植継では、安定的に個体数密度が増加したことが確認された（図 1）。しかし、5 日サイクルで安定的な増殖を繰り返した原生動物と違って、希釈前の培地による *Aeolosoma* の個体数密度まで回復するまで約 3 週間かかった。これはひとえに生物種の大きさによる成長速度の違いだと考えられる。今後は 20 日サイクルで植継を行うつもりである。また、今はまだ AE 培地の必須脂肪酸の影響が強いため増殖しているとも考えられるため、植継を繰り返して増え方にどのような変化が起こるか確認したい。

(2) 脂肪酸分析結果

脂肪酸分析はすべての系で行った。ω3 系統の脂肪酸を表 1 に、ω6 系統の脂肪酸を表 2 にまとめた。まず、ω3 系統では、リノレン酸 (18:3ω3) とそれから派生するドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6ω3) が AE 培地で確認された。しかしながら、実験系 3 系においてどの脂肪酸も検出されなかった。これはサンプルをろ過した時に培地の成分がろ紙にトラップされずに透過したためと考えられる。次に ω6 系統では、リノール酸 (18:2ω6) とそれから派生するジホモ-γ-リノレン酸 (DGLA, 20:3ω6)、アラキドン酸 (AA, 20:4ω6) が AE 培地で確認された。また、A2, A3 において上記の 3 つが検出された。A1 で全く検出されなかったのは、私の不注意でろ紙をセットする前にろ過機を作動させてしまい、サンプルがろ紙にトラップされなかったためだと考えられる。表 1 のように ω3 系統ではサンプルから脂肪酸は確認されなかったものの、表 2 のように ω6 系統では脂肪酸が確認されたことから *Aeolosoma* は ω6 系統の脂肪酸を合成した可能性がある。しかし、サンプルの脂肪酸含有量はどれも微量であり、今後植継回数を増やして AE 培地の脂肪酸含有量が極めて微小になるときにどのような

のか評価したい。

4 まとめ

本研究では後生動物 *Aeolosoma* が必須脂肪酸を含まない餌を摂取し安定的に増殖可能かどうかおよび、必須脂肪酸合成能を有するか否か検討した。この結果、暫定的ではあるが、必須脂肪酸がなくとも安定的に増殖可能なようである。今後、多種の必須脂肪酸合成能の定量的評価や、実環境における動物類による必須脂肪酸合成が食物連鎖にどのように働きかけているか解析していくことが生態系を評価するうえで重要になるだろう。

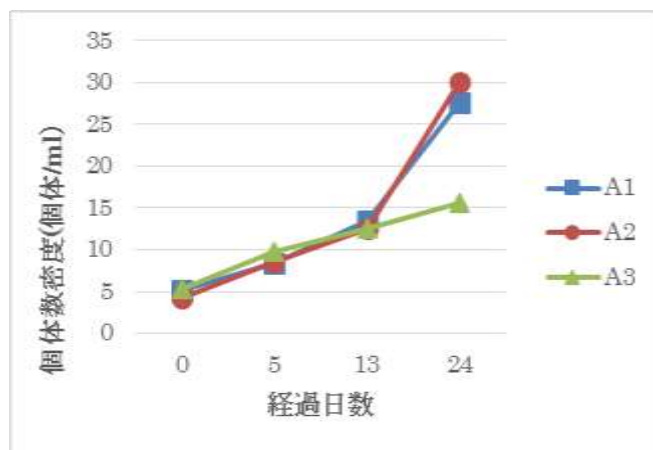


図 1 A1eolosoma の個体数密度の時間的変化

表 1: ω3 系統の脂肪酸分析結果

EFA	18:3ω3	20:5ω3	22:6ω3
AE培地 (mg/L)	6.89×10^{-1}	0	5.23×10^{-2}
A1 (mg/L)	0	0	0
A2 (mg/L)	0	0	0
A3 (mg/L)	0	0	0

表 2: ω6 系統の脂肪酸分析結果

EFA	18:2ω6	20:3ω6	20:4ω6
AE培地 (mg/L)	1.23	7.15×10^{-3}	1.37×10^{-1}
A1 (mg/L)	0	0	0
A2 (mg/L)	6.36×10^{-3}	1.41×10^{-3}	1.55×10^{-3}
A3 (mg/L)	5.37×10^{-3}	4.20×10^{-4}	1.43×10^{-3}

謝辞

本研究は JSPS 科研費 基盤研究 (A) 16H02747 の助成を受けて実施された。ここに記して謝辞とする。

参考文献

- 1) Kankaala, P. et al.: Experimental d13C evidence for a contribution of methane to pelagic food webs in lakes, *Limnology and Oceanography*, Vol. 51, pp. 2821-2827, 2006
- 2) 橋戸 駿: 細菌を捕食する微小動物の必須脂肪酸合成 2016
- 3) Abdulkadir, S. and Tsuchiya, M.: One-step method for quantitative and qualitative analysis of fatty acids in marine animal samples, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 354, pp. 1-8, 2008.