

# 冬季サロマ湖より単離した珪藻類二種のマイコスポリン様アミノ酸の定量

若林 隆<sup>1</sup>、鈴木 祥弘<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> 神奈川大学 理学研究科 生物科学専攻

## Quantitative analysis of mycosporine-like aminoacids accumulated in the cells of two diatom species isolated from Saromako-lagoon in winter

Ryu Wakabayashi<sup>1</sup> and Yoshihiro Suzuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Course of Biological Sciences, Graduate School of Science, Kanagawa University

The increased UV exposure due to ozone depletion may damage not only to the antarctic ecosystem but also to the arctic one. Corresponding to the UV exposure, micro algal species of the primary producer in the ecosystems can accumulate mycosporine-like aminoacids (MAAs), which strongly absorb UV ray between 320 and 360 nm and is expected to play important roles to reduce the UV damages. However it is hard to identify the molecular species of accumulated MAAs, as any standard samples are not obtainable commercially. And especially from the diatom species it is hard to extract MAAs thoroughly, as the frustule can fix some MAAs. To estimate the accumulation of MAAs quantitatively and its roles to the UV exposure, we should extract thoroughly and identify MAAs. In this study, we aim to identify MAAs and to estimate their total amounts in the cells of two diatom species isolated from Saromako-lagoon in winter, 2012.

MAAs in the diatom cells are extracted with methanol and are purified by HPLC. These purified samples were further compared by HPLC with the standard samples of shinorine and porphyra-334 extracted from the cells of unicellular red algae (*Chroodactylon ornatum* (C.Agardh), Basson, NIES-1969, 1970, 1971), which is already known to accumulate these two MAAs. Then only the porphyra-334 was accumulated in both of the diatom species. This result will be confirmed by mass analysis. The extraction efficiencies of porphyra-334 from diatom cells were different between solvents for extractions. Its efficiency from *D.confervacea* with DMF was higher than those with methanol and was similar to the efficiency after degradation of its frustules with hydrofluoric acid. Furthermore the amounts of porphyra-334 could be estimated from the absorption spectrum of eluted substance by DMF. The effects of light condition on the accumulation of porphyra-334 will be shown by cultivation experiment.

近年のオゾン層の衰退にともなって増加した紫外線は、極域海洋でも生物に大きな影響を与えることが予想されている。極域海洋の主要な一次生産者である微細藻類は紫外線に対応してマイコスポリン様アミノ酸 (mycosporine-like aminoacids ; MAAs) を蓄積する。マイコスポリンのイミン誘導体にアミノ基などがついた、波長320~360 nmの範囲に高い吸収を持つ様々な紫外線吸収物質からなるMAAsは、強光、紫外線、熱、酸、アルカリに安定で、紫外線を吸収するばかりでなく、励起チミンのクエンチャーや、過酸化物質に対する抗酸化剤として機能し、生物を紫外線から保護している。重要な機能を持つMAAsであるが、いずれの分子種についても標準標品が市販されていないため、藻類が産生し蓄積したMAAsの各分子を同定し、定量することは難しかった。とくに、極域微細生類の主要な構成種である珪藻では、MAAsが珪酸の被殻と強固に結びついて溶出が難しいことがあり、MAAsの解析を不安定なものにしている。

本研究では、結氷期のサロマ湖で優占していた珪藻類 *D. confervacea* と *T. nordenskiöldii* を単離し、蓄積する MAAs の同定と定量を目指した。分子種を同定するために、既知の紅藻類培養株 (*Chroodactylon ornatum* (C. Agardh) Basson, NIES-1969, 1970, 1971) から、シノリンとポルフィラ 334 標品を得て、珪藻類から得た MAAs と HPLC で比較した。その結果、両種ともポルフィラ 334 を蓄積することを明らかにした。さらに珪藻類 MAAs 分解産物の質量分析を行ってこの結果を確認している。蓄積された MAAs の定量を行うため様々な溶媒を用い、藻体からの抽出を試みた。その結果、メタノールでは *D. confervacea* から MAAs を抽出できないこと、N,N-dimethylformamide (DMF) では、被殻を分解した場合と等しい MAAs が抽出できることを明らかにした。さらに、DMF 抽出物の吸収スペクトルから、簡便に MAAs 濃度が定量できることを示した。現在この定量法を用いて、様々な光質の下で培養した藻類細胞の MAAs 蓄積量を解析している。