

## 渦鞭毛藻における脂肪酸組成と環境ストレスとの関係

若浜貴宏<sup>1</sup>、Ahmad Iskandar Bin Haji Mohd Taha<sup>1</sup>、高市真一<sup>2</sup>、河地正伸<sup>3</sup>、吉田磨仁<sup>5</sup>、小亀一弘<sup>4</sup>、奥山英登志<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> 北海道大学大学院環境科学院・生物圏科学専攻

<sup>2</sup> 日本医科大学・生物学教室

<sup>3</sup> 国立環境研究所・環境生物保存棟

<sup>4</sup> 北海道大学大学院理学研究院・自然史科学部門

<sup>5</sup> 北海道大学大学院地球環境科学研究院・環境生物学部門

### The relationship between fatty acid composition of dinoflagellate and environmental stresses

Takahiro Wakahama<sup>1</sup>, Ahmad Iskandar Bin Haji Mohd Taha<sup>1</sup>, Shinichi Takaichi<sup>2</sup>, Masanobu Kawachi<sup>3</sup>, Kiyohito Yoshida<sup>3</sup>, Kazuhiro Kogame<sup>4</sup>, and Hidetoshi Okuyama<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Division of Biosphere Science, Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan

<sup>2</sup> Department of Biology, Nippon Medical School, Kawasaki, Japan

<sup>3</sup> Biological resource collection, National institute for environmental studies, Tsukuba, Japan

<sup>4</sup> Faculty of Science, Graduate School of Natural History and Science Division, Hokkaido University, Sapporo, Japan

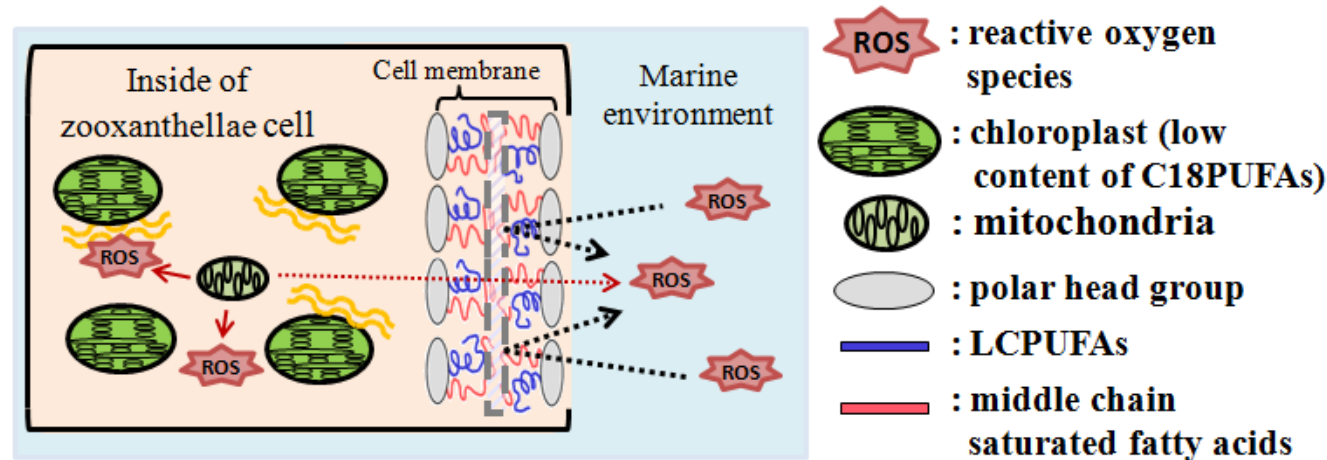
<sup>5</sup> Faculty of Environmental Earth Science, Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan

Long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs) such as docosahexaenoic acid (DHA) are commonly distributed in marine organisms. Autotrophic or heterotrophic dinoflagellates, which belong to Chromalveolata, have high contents of LCPUFA (1, 2). LCPUFAs have been regarded as a modulator to maintain the fluidity of biomembranes because of their lower melting temperatures. However, it is well known that significantly high contents of LCPUFAs are detected in stramenopiles, such as labyrinthulids, which also belong to Chromalveolata (3), isolated even from tropical or semitropical marine environments. Therefore, it is suggested that the function of LCPUFAs may not be restricted to temperature adaptation for poikilotherms but be more universal. In bacterial systems the antioxidative functions of LCPUFAs against various reactive oxygen species (ROS) (4), whose production can be enhanced by environmental stresses, have been reported. In this study, the relationship between the tolerance to several stresses such as thermal and oxidative stress and fatty acid composition, especially the contents of DHA, was investigated to elucidate physiological roles of LCPUFAs using symbiotic and free-living dinoflagellates. When lipid and fatty acid compositions of symbiotic *Symbiodinium microadriaticum* CCMP2467 and *Symbiodinium kawagutii* CCMP 2468 were compared, CCMP 2467 had higher contents of octadecatetraenoic acid in galactolipids and less contents of DHA in phospholipids than CCMP 2468. Interestingly, CCMP 2467 was more sensitive to the treatment with *tert*-butyl hydroperoxide, an analogue of hydrogen peroxide than CCMP 2478. Considering that CCMP 2467 is a symbiont more sensitive to bleaching than is CCMP 2468, that C18 polyunsaturated fatty acids are more susceptible *in vivo* to oxidation than DHA, and that LCPUFAs of membrane phospholipids exert antioxidative functions against reactive oxygen species (ROS), differences in fatty acid compositions between these two strains may relate to the sensitivity against ROS. Recently, coral bleaching has become widespread at a global scale. In addition, the northern limit of corals' habitat moves toward the north (6). Both events would be caused by a rise in seawater temperature. It is necessary to investigate whether or not the rise of seawater temperature causes the production of excess levels of ROS in symbiont and/or host in coral systems. We discuss the relationship between environmental stresses including ROS and fatty acid and lipid compositions of various dinoflagellates including zooxanthellae.

ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの長鎖多価不飽和脂肪酸 (LCPUFAs) は海産生物にほぼ普遍的に存在するため、海洋脂質 (marine lipid) と言われることもある。しかし、LCPUFA を *de novo* 合成できるのは藻類とある種の細菌に限られる。渦鞭毛藻はクロムアルベオラータ (Chromalveolata) の一群であり、その分布は海洋にとどまらないが、独立栄養性のもの、従属栄養性のものともに高い含量の LCPUFA を持つことが知られている (1,2)。従来から、変温生物における LCPUFA の生理的役割は、その融点が飽和脂肪酸に比べて低いため、特に低温環境における膜流動性の維持にあるとされてきた。しかし、低温性微生物に限らず、熱帯や亜熱帯海域に由来する同じクロムアルベオラータである(3)ラビリンチュラなどのストラメノパイル (stramenopiles) は極めて高い LCPUFA 含量をもつことが知られている。また、バクテリアにおいては、LCPUFA は細胞外の酸化ストレスに対し、抗酸化作用を持つことが明らかになっており(4)、LCPUFA の機能はより普遍的であると予想される。本研究では、LCPUFA の生理機能を解明するため、共生性渦鞭毛藻 (褐虫藻) を含む渦鞭毛藻を用いて、温度や酸化物質など

に対するストレス耐性と脂肪酸組成、特に DHA 含量との関係について調べた。独立栄養性の渦鞭毛藻として共生性の *Symbiodinium microadriaticum* CCMP2467、*Symbiodinium kawagutii* CCMP 2468 など、非共生性（浮遊性）の *Amphidinium carterae* などを用いた。CCMP 2467 と CCMP 2468 は白化に対する耐性の異なるサンゴに由来するものであり、CCMP 2467 の宿主サンゴより、CCMP 2468 の宿主サンゴのほうが白化に耐性を持つ。従属栄養性渦鞭毛藻としては *Cryptocodinium cohnii* CCMP316 を用いた。脂質組成、脂肪酸組成は定法により調べた。ストレス耐性は、過酸化水素のアナログである *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP) に対する最低阻害濃度 (MIC) の測定によって調べた。その結果、CCMP 2467 の *t*-BHP に対する MIC は CCMP 2468 のそれよりも低く、CCMP 2468 の方が細胞外の酸化ストレスに対して耐性があることがわかった。脂肪酸組成に関しては、主要糖脂質であるジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG) の全脂肪酸に対するオクタデカペンタエン酸 (18:5) の含量が CCMP 2468 に比べ、CCMP 2467 の方が顕著に高かった。DGDG などの糖脂質が葉緑体、特にチラコイド膜の主要脂質であることや、生体内では C18 の多価不飽和脂肪酸は DHA などの LCPUFA に比べて酸化されやすいということを考えれば、DGDG 中の 18:5 の高い含量は、細胞膜を透過した *t*-BHP、及び細胞内で生産された ROS に対する葉緑体の感受性を高めると解釈される。また、主要リン脂質のホスファチジルコリンの DHA は CCMP 2467 に比べ、CCMP 2468 の方が高かった。リン脂質が細胞膜やミトコンドリアの主要脂質であること、また自然の海水中には 10~400  $\mu$ M 程度の過酸化水素が含まれていること(5)などを考えれば、渦鞭毛藻リン脂質中の DHA の存在は、細胞外に由来する *t*-BHP (ROS) に対する耐性を与えると解釈される。以上のことは、CCMP 2467 の宿主サンゴが CCMP 2468 の宿主サンゴよりも白化に対する感受性が高いこと、また、サンゴの場合、その白化現象が環境ストレスによって生成される活性酸素 (ROS) による褐虫藻のサンゴからの離脱 (と色素の喪失) であるという考え方と符合する。近年、世界各地でサンゴの白化現象が起こっており、加えてサンゴの生息北限の上昇が指摘されている (6)。サンゴの生息北限の上昇は地球規模での海水温の上昇とみれば理解できる。一方で、海水 (環境) 温度の上昇が生物的及び非生物的な ROS の過剰な生成をもたらすか否かの解明が必要である。褐虫藻に限らず、広範な渦鞭毛藻種の脂肪酸組成と環境ストレス (ROS) 耐性との関係を議論する。

Figure 1. A possible role of LCPUFAs in the protection against damages by ROS in dinoflagellates



1. Natalia V. Z and Eduard A. T. Fatty acid variations in symbiotic dinoflagellates from Okinawan corals. *Phytochemistry* 62 (2003) 191-195.
2. James R. H., John W. L. and John R. S. Lipid composition and biosynthesis in the marine dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. *Phytochemistry* 27 (1988) 1679-168.
3. Harper J. T., Waanders E. and Keeling P. J. On the monophyly of chromalveolates using a six-protein phylogeny of eukaryote. *Int. J. System. Evol. Microbiol.* 55 (2005) 487-496.
4. Nishida T., Hori R., Morita N. and Okuyama H. Membrane eicosapentaenoic acid is involved in the hydrophobicity of bacterial cells and affects the entry of hydrophilic and hydrophobic compounds. *FEMS Microbiol. Lett.* 306 (2010) 91-96.
5. 赤根 幸子・牧野 慎也・橋本 典親・八束 陽介・河合 裕・竹田 一彦・佐久川 弘、広島湾における海水中の過酸化水素の分布と挙動. *海の研究 (Oceanography in Japan)*, 13 (2004) 185-196.
6. 独立行政法人 国立環境研究所「海水温上昇ともなうサンゴ分布の北への急激な拡大  
ホームページ : <http://www.nies.go.jp/whatsnew/2011/20110121/20110121.html>