定遺伝子 (*nifH*) 配列が検出される。それらの系統学的多様性は、シロアリの系統分類群ごとに比較的保存されているが、分類群間ではシロアリの系統よりむしろ生活様式と相関がある^(7,8) (図2)。腸内の窒素固定細菌が宿主シロアリと共進化し、宿主の生活様式にあわせた適応を果たしていることがここでも示唆される。

腸内の原生生物はシロアリの祖先から受け継がれ、シロアリとともに進化して腸内で多様化したものという証拠が出始めている⁽⁶⁾。世代を超えて共同生活をする社会性昆虫であるシロアリは、肛門からの排泄物を介して個体間で安定に共生微生物を受け渡す機構を発達させている。常に一定した微生物群集が受け継がれていくので、進化の過程で十分に長い時間をかけて高い窒素固定能を発現するのにふさわしい共生関係を腸内で築いてきたのではないだろうか。一方で、ミバエで共生窒素固定に働くと考えられる *Citrobacter* 属、*Klebsiella* 属の細菌は、高頻度にミバエの腸内にみられるとされているが⁽³⁾、ミバエを含む多くの昆虫は世代間で腸内微生物を安定に受け渡す機構をもっていない。腸内以外の環境や種の異なる宿主での生存が必要であったり、同じ腸内でも宿主の世代ごとに異なる微生物パートナーと同居することになることから、シロアリ腸内でのような窒素固定に有利な進化や共生関係の構築を果たせなかったのではなかろうか。

シロアリ腸内での窒素固定には、複数の微生物種が特定の機能を分担して補いあう共生機構が働いており、共生微生物群の安定した垂直伝播機構に基づいた共進化と

適応が共生成立に重要な要因となっていたように思われる。植物と窒素固定細菌との共生では、シロアリのような安定した伝播機構をもたないが、共生成立のために多くの遺伝子が関与する高度な機構を発達させている。すでに安定して受け継がれていく共生系が確立している *CfPtl-2* 細菌では、もはやそのような遺伝子群はなく、ゲノムが縮小化して窒素関連代謝に特化して⁽⁵⁾、細胞内小器官化への道を進んでいるようにもみえる。

ところで、シロアリ腸内原生生物の細胞共生細菌すべてが窒素固定をするわけではない。セルロース分解性の原生生物が腸内にいないシロアリ種群でも高い窒素固定活性を示すものもあるので、原生生物細胞との共生だけでは説明できない要因が考えられ、今後の研究に期待される。また、窒素固定能が検討された動物種は未だ少ないので、今後多くの動物で活性が検出されるかもしれない。個々の種での活性は低くとも、動物での共生窒素固定が生態系での窒素循環に無視できないほどの貢献をしている可能性も否定できない。

- 1) A. Yamada *et al.* : *Ecosystems*, **9**, 75 (2006).
- 2) T. Kuranouchi *et al.* : *J. Appl. Entomol.*, **130**, 471 (2006).
- 3) A. Behar *et al.* : *Mol. Ecol.*, **14**, 2637 (2005).
- 4) M. Ohkuma : *Trends Microbiol.*, **16**, 345 (2008).
- 5) Y. Hongoh *et al.* : *Science*, **322**, 1108 (2008).
- 6) M. Ohkuma *et al.* : *Proc. R. Soc. B.*, **276**, 239 (2009).
- 7) S. Noda *et al.* : *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4935 (1999).
- 8) A. Yamada *et al.* : *Mol. Ecol.*, **16**, 3768 (2007).

(大熊盛也, 本郷裕一, 独立行政法人理化学研究所)

日本固有種ラン藻由来「超巨大分子」の構造物性 原始生物のつくる未知代謝産物を用いた次世代マテリアルへの挑戦

1992年に生物多様条約が締結され、2008年10月現在、日本を含む190ヵ国とECがこの条約に入り、世界の生物多様性を保全するための具体的な取り組みが検討されている。その一方で、各先進技術国が新規医薬品原料や有効物質を途上国に求め始め、いわゆる「有用微生物探索」が加速している。筆者らは、新規物質の生産可能性を秘めた微生物として、その利用が未だ途上にある光合成微生物「ラン藻」に着目した。ラン藻は地球上で初めて光合成を行ない大気中に莫大な量の酸素をもたらした、生命活動に酸素を必要とする生物を誕生させる機会を与えた原始生物である。また太古の地球上で、メタン、

水素、二酸化炭素、アンモニアなどが大気中に充満する過酷な環境の中、水と二酸化炭素と光を用い様々な有機物を生産した生物でもある。見かけ上、真核生物の海藻類と似ている種もあるがラン藻はれっきとした酸素発生型光合成をする「細菌」である。筆者らは、この原始生物の生産する代謝産物は進化の進んだ生物の生産する代謝産物にはない機能を備え、進化が進むにつれスクリーニングされ失われていった物質を未だ生産し留めているのではないかと考え、この原始生物のつくる生体分子を、今後様々な分野の新しい材料へと導くことができないかと挑戦を試みた。

図1 ■ マイカ上で乾燥したサクラン鎖の原子間力顕微鏡像(上), サクラン鎖の部分構造(下)

筆者らがまず注目したのは、生態および代謝産物の研究がほとんど進展していなかった⁽²⁾ 寒天性ラン藻 *Aphanothera sacrum* (和名: スイゼンジノリ) である。スイゼンジノリは日本固有種であり、天然種は絶滅したとされているが、現在熊本県と福岡県の養殖場で食用として養殖されている。この生物は細胞体の生育の場として、また外部から細胞体の保護のため多量の細胞外マトリックスを形成している。他方、ラン藻のほとんどは細胞体自身の固定や重金属・微粒子捕捉のために多糖類を細胞外に大量に分泌している⁽¹⁾。

川から採取したスイゼンジノリを水および有機溶媒で洗浄後、細胞外マトリックスの主成分である多糖類をアルカリ溶出させた後、有機溶媒で沈殿回収し繊維状物質を得た⁽²⁾。この多糖類は下記に示すように新規物質であったので、スイゼンジノリの種名 *Sacrum* の語尾を多糖類という意味の接尾語である -an に置き換えることで sacran (サクラン) と名付けた。サクランの構造を分光学的に調べることで、アミド基、硫酸基 (10 mol% 対糖残基)、カルボキシル基 (22 mol% 対糖残基) が存在することが判明した。構成糖残基としては、各種クロマトグラフィー法により、2種のウロン酸と7種の中性糖が含まれ、さらに硫酸化ムラミン酸という新規糖も含まれることが判明した。他の分析もあわせると、サクランは少なくとも10種類の構成糖残基をもつ非常に複雑な構造の非晶性多糖類であることがわかった⁽³⁾。

また、原子間力顕微鏡によりサクランの一分子鎖の形

状を観察したところ、分岐構造をもち、かつ13 μmにも及ぶ超巨大分子であることも見いだされた (図1-左上)。しかも、サクランは純水からマイカ上にキャストすることで網目状構造をとることがわかった (図1-中上)。一般的に電解質多糖類は塩の添加により凝集構造をとる傾向にあるが、サクランに関しては塩の添加でも凝集はまったく見られなかった。分子量を静的光散乱法とゲル透過クロマトグラフィー法により測定したところ、1,600万にも達することが判明した。以上のように、サクランは抽出天然分子としては最も高い分子量をもつ超巨大多糖類 (部分構造: 図1-下) であった。今後の研究で、より詳細な性状の解析していく予定である。

回転粘度系でサクラン水溶液 (1重量%) のゼロ剪断粘度を調べたところ、非常に高く、83,000 cps の値を示した。また、生理食塩水中では153,000 cps もの高い数値を示した。これは、ヒアルロン酸の生理食塩水中における値 (4,400 cps) の実に38倍もの数値であった⁽²⁾。さらに、原子間力顕微鏡と透過型電子顕微鏡観察 (図1-右上) の結果から、サクランは塩の存在下で二重らせんを形成することが推定できた。一般の分子鎖はヒアルロン酸のように塩を加えると収縮した立体構造となるので粘性は下がるが、サクランに関しては、塩を加えることで二重らせん形成などの会合が促進されて、見かけの分子量が増大したことで塩添加による増粘現象が見られたと考えられる。

また、サクランの直交偏光子を用いた観察から、0.5重

量%以上のサクラン水溶液はネマチック液晶相を示すことがわかった⁽⁴⁾。この濃度は他の溶液系液晶と比較して桁違いに低い。たとえば、三重らせん構造を形成することで有名なシゾフィランの臨界液晶濃度は13重量%であり⁽⁵⁾、低濃度で液晶を示すといわれているキサンタンガムや硫酸化セルロース結晶子の臨界液晶濃度はそれぞれ6重量%、5重量%と報告されている。そこで、フローリーの格子理論⁽⁶⁾からサクランの液晶性官能基としてはたらく部位の軸比を求めると $X=1,600$ という数値を示した。この数値をもとに液晶性部位の持続長を計算すると、 $32\ \mu\text{m}$ という髪の毛の太さほどの長さに達した。

日本固有の希少原核生物種から発見された興味深い特徴をもつサクランを用い、現在様々な分野へと応用展開を目指し、筆者らを含め共同研究大学、会社などで「ラン藻由来新機能性マテリアル」の創製への挑戦が始まっている。たとえば保水力の高さと基板上における網目状伸展性に基づいた被膜形成効果の期待できる新保湿剤（化粧品用）や医療補助剤としての創傷被覆剤などである。また特に注目しているのは、サクランのポリアニオン構造に基づくカチオンとの高い吸着特性である。サクランをL-リジンなどのジアミンで架橋して得たハイドロゲルを、希土類（ガドリニウムなど）金属イオン水溶液に浸してイオン吸着する様子を観察したところ、ハイドロゲルは次第に収縮しかつ白濁した。この現象はハイドロゲルが脱水していることを示している。つまり、3価金属イオンである希土類イオンがサクラン編み目に吸

着しゲルの架橋密度が上昇したと考えられる。そこで、上澄みの金属イオン濃度をICP発光法により調べた結果、サクランゲルは理想的な吸着率(0.333)よりも多くの金属イオンを過剰吸着することがわかった。

以上、日本固有種である養殖可能な寒天性ラン藻のスイゼンジノリから抽出した新規超巨大高分子を用いて、希土類金属イオンを効率よく吸着させる方法を見いだした。この方法はアカデミックなレベルで確立したばかりであり、今後、ラージスケールにおける吸着技術の確立や吸着金属の低エネルギー還元法を目指して研究を進める予定である。これにより、画期的な概念であるラン藻由来バイオマスを有効に利用することで、現代社会に必須のクリティカルメタルリサイクル技術開発の切っ掛けをつくりたい。

- 1) R. D. Philippis & M. Vincenzini: *FEMS Microbiol. Rev.*, **22**, 151 (1998).
- 2) M. K. Okajima, M. Ono, K. Kabata & T. Kaneko: *Pure Appl. Chem.*, **79**, 2039 (2007).
- 3) M. K. Okajima, T. Bamba, Y. Kaneko, K. Hirata, E. Fukusaki, S. Kajiyama & T. Kaneko: *Macromolecules*, **41**, 4061 (2008); M. K. Okajima, S. Miyazato & T. Kaneko: *Langmuir*, 印刷中.
- 4) M. K. Okajima, D. Hayasaka, S. Miyazato & T. Kaneko: *Proc. SPIE-Int. Congress on Optics and Optoelectronics*, **6587**, 658711/1 (2007).
- 5) K. Van, T. Norisuye & A. Teramoto: *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **78**, 123 (1981).
- 6) P. J. Flory: *Proc. Roy. Soc. A*, **234**, 73 (1956); P. J. Flory: *Adv. Polym. Sci.*, **59**, 1 (1984).

(岡島麻衣子, 北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科)