

微生物の海

浜崎 恒二

プロローグ・スプーン一杯の海水

普段何気なく見ている海の中には、想像を上回るほど多くの目に見えない小さな生き物、いわゆる微生物が生きていることをご存じでしょうか？ もし、今日近くの海に出かけて行って小さなスプーンで海水をすくったとしましょう。そこに含まれている細菌の数は、100万細胞にも達するのです。みなさんが住んでいる町の人口と比べてみてください。どうです、凄い数だと思いませんか？ 細菌よりさらに小さいウイルスに至っては、なんと細菌の十倍つまり1000万にも達します。ほんのスプーン一杯の海水中に、東京都の人口に匹敵するくらいのウイルスが存在しているのです。海水中には他にも、光合成を行う微細藻類、アメーバやゾウリムシなどの原生動物といった多様な微生物が生息しています。それらは、その小ささゆえに普段あまり意識することのない生物たちですが、人間自身を含めて地球上に生息する動植物にとって、なくてはならない存在です。こうした微生物たちが、海洋生態系において非常に重要な役割を果たし、自然環境の持続性、地球規模の環境変動、人の健康といった近年注目を集めている問題に深く関わっていること、また未知の遺伝子資源としてはかり知れない可能性をもっていることが昨今の研究によって次々と明らかになってきました。

「プランクトン」とは、ギリシア語で「漂う、さまよう」という意味の *Planktos* に語源をもち、水中で浮遊生活を営む生物を指す用語です。水中で浮遊生活を営む植物を「植物プランクトン」、水中で浮遊生活を営む動物を「動物プランクトン」と呼ぶわけです。海の世界連鎖として良く知られている「植物プランクトン（光合成生産者）動物プランクトン（一次消費者）魚（二次消費者）」という連鎖経路は、専門家の間ではクラシカル・フードチェーン（古典的な食物連鎖）と呼ばれています。皆さんがこれまで学校で教わってきた食物連鎖は、今や古典的な概念なのです。代わって新しい概念では、従来の食物連鎖に加えて微生物によるミクロの食物連鎖が大きな役割を果たし、二つの食物連鎖がうまくバランスをとりながら全体の生態系を形作っているとされています。ミクロの食物連鎖は、1970年代にジョージア大学のポメロイによってその重要性が指摘され、1980年代にスクリプス海洋研究所のアザ

ムによって「微生物ループ」と名付けられました。「微生物ループ」モデルは、海洋の食物連鎖に対するそれまでの概念を一変させ、海洋微生物研究の一大ムーブメントを引き起こしました。以来20年近くにわたって、このモデルの検証が行われ、今や教科書的事実として認められるに至っています。しかし残念ながら、未だ日本の初等、中等教育の教科書には登場していませんので一般的な認知度はほとんどありません。本書によって少しでも多くの方々に知っていただけることを願います。

そもそも微生物とは、その名前の通り肉眼ではほとんど見えず、虫めがねや顕微鏡のような拡大装置を用いて初めて見えるような小さな生物を意味する言葉です。一般に、私たち人間や高等な動植物が、多くの細胞の組み合わせによって形作られている多細胞生物であるのに対して、微生物は1個の細胞で生きている単細胞生物です。具体的には、カビや酵母などの菌類、アメーバやゾウリムシなどの原生動物、光合成を行う藻類、さらに細菌、ウイルスといった生物が微生物に含まれます。微生物は、生物としてのしくみが単純であることや実験室で簡単に速く増やすことができることから、生命の仕組みを解き明かすためのモデル生物として研究材料に利用されてきました。大腸菌や枯草菌といった種類の細菌は、代表的なモデル微生物です。こうした細菌を詳しく調べることによって、生命の基本システムに対する私たちの理解は大きく進みました。微生物はまた、その多様な代謝機能によって古くから人間社会に利用され、目に見える形で恩恵をもたらしてきました。私たちの日々の生活に欠かせない味噌や醤油、納豆、ビール、日本酒、パン、チーズなどいわゆる発酵食品と呼ばれるものは、すべて微生物の働きによって作られるものです。食品製造のみならず、排水処理でも微生物による分解作用を利用しています。もちろん病原微生物のように時として人間社会の敵となる場合もあります。

私たちの生活に直結する有用、有害生物としての微生物については、これまでたくさんの本が出版され、みなさんも比較的良く知っていることと思います。本書では、こうした見方とは少し違った海洋学や環境科学の視点から、微生物とそれを取り巻く環境との関係について紹介してゆきます。後ほどお話しするいくつかの技術的な限界から、「微生物ループ」を含めて海洋に生息

する微生物の生態は最近まで良くわかっていませんでした。しかし、ここ 20 年ほどのあいだに状況は大きく変化しました。分析技術の飛躍的な進歩によって、急速に理解が進んだのです。これまでの研究によって、かつて考えられていた以上に、海洋生態系における微生物の役割が大きいことや想像以上に多様な存在であることが分かってきました。以下の章では、最新の知見をもとに、自然の中で繰り広げられるミクロの世界のドラマを紹介してゆきます。スプーン一杯の海水から見えてくる海洋生態系や地球環境のお話です。

第 1 章 微生物ループとは？

第 1 節 海洋微生物研究のはじまり

微生物を観察するには、顕微鏡が欠かせません。顕微鏡を用いて人間が微生物の存在を確認できるようになったのは、17 世紀の後半ごろです。1677 年、オランダのアマチュア顕微鏡製作者であったレーベンフックは、自ら製作した顕微鏡を用いて、雨水や井戸水、海水などを観察し、その中に生息し分裂する「アニマルキュラ」(小さな動物たちという意味)について記録を残しています。彼が使用した顕微鏡は、現在のものに比べると、非常に原始的なものでしたが、優れた操作技術によって 1 ミリの千分の一程度の大きさしかない細菌まで観察し、桿菌、球菌、連鎖球菌といった代表的な細菌の形態を識別して報告しています。

自然界に存在するこうした細菌を分離し、実験室内で様々な性質を調べることができるようになったのは、19 世紀後半になってからです。スープを作ってしばらく置いておくとしだいに腐り始め、顕微鏡で観察すると、無数の微生物が存在することがわかります。19 世紀の科学者たちは、スープの中に見える微生物は、スープの成分から新たに合成されて発生すると考えました。このような考え方は、自然発生説と呼ばれましたが、フランス人化学者パスツールは、スワンネックフラスコを用いた有名な実験によって、これを見事に否定してみせたのです。

当時、瓶に入れたスープを煮沸した後に密封すると、スープは腐らないつ

まり微生物は発生しないことがわかっていました。これに対し、自然発生説を唱える科学者たちは、密封した瓶では空気が入らないために微生物の合成が妨げられるのだと説明しました。一方、スープが腐るのは、空気中に存在する微生物が瓶の中に進入し、それが増殖するからだと考えたパスツールは、これを証明するために次のような実験を行ったのです。まず、スープを入れたガラスのフラスコを煮沸します。その後、フラスコの口を細長く伸ばしてS字状に曲げ、空気の交換はあるが微生物は進入しにくい形状に加工したのです。そうすると、スープは瓶を密封したときと同じようにいつまでも腐ることはありませんでした。そして、フラスコの口を傾けて、細長く伸ばした部分に腐らなかったスープを浸して、そのまま置いておくとすぐに腐り始めたのです。パスツールが実験に用いたフラスコの形がちょうど白鳥の首に似ていたことから、スワンネックフラスコと呼ばれたのです。今日ではパスツールフラスコと呼ばれています。加熱などによって、細菌の発生や進入を防ぐことを「滅菌」と呼びますが、滅菌操作によって細菌の発生を抑えるというパスツールの考え方は、その後の科学としての微生物学の発展に大きく貢献すると同時に、缶詰製造や食品保存への応用を通して、食品科学にも大きな影響を与えることとなります。

パスツールと共に近代微生物学の基礎を築いたのが、ドイツ人医学者のコッホです。コッホは、病気を引き起こす細菌の研究を通して、個体培地による微生物の分離方法を確立しました。その方法では、微生物の生育に必要な栄養源をゼラチンや寒天で固め、その上に微生物の入った試料を塗布します。しばらくおいておくと、円盤状の小さな固まりが表面に現れます。これは、コロニーと呼ばれる微生物のかたまりで、それぞれが一個の微生物から生育を始め目に見える大きさにまで増えたものです。従って、一つのコロニーは単一の微生物からできていることとなります。試料の中にたくさんの種類の微生物がいても、コロニーを作らせることで、それぞれの微生物を分離することができるのです。コッホは、この方法を用いて炭疽病（牛の病気で時々人にも感染する）が孢子形成細菌の一種であるバチルス・アンスレーシスによって引き起こされることを証明しました。さらに、一連の実験を通して、病気と微生物の因果関係を証明するために必要な基準を表 1.1.1 のように設

定しました。コッホの研究をきっかけとして次々と重要な病原菌が明らかにされ、多くの伝染病の防止や治療方法の開発につながるようになったのです。

19世紀後半に海洋の微生物について研究を行ったのは、ドイツキール大学の衛生学の教授であったフィッシャーです。魚のエキスを海水に加え、ゼラチンや寒天で固めた培地を用いて、船医として勤めた10年間に、海洋における細菌数、分布、種類などを精力的に調べました。フィッシャーによる一連の先駆的研究によって、海洋における普遍的な細菌の分布が初めて明らかになりました。1887年には、バルト海から西インド諸島への航海で分離した発光細菌をフォトバクテリウム・インディカムとして記載しています。フィッシャーはさらに、同じキール大学の教授であったヴィクトール・ヘンゼンによって率いられた海洋調査航海「Plankton Expedition (プランクトン遠征)」に参加し、1889年7月から11月にかけて大西洋を横断しながら、たくさんの海水試料の細菌数を調べました。Plankton Expeditionは、プランクトンの定量的な採集を目的とした最初の研究航海とされています。ちなみに、Plankton (プランクトン) という学術用語は、1887年ヘンゼンによって初めて提案され、1890年エルンスト・ヘッケルによってきちんとした定義がなされました。この航海で得られた生菌数は、平均で1cc当たり1,083、最高で29,400であったと報告されています。また、フィッシャーは、外洋域に比べて沿岸域では2倍以上の計数値となることや1000m以深の深海からは培地上に生育する細菌がほとんどいないことを見出しています。細菌数の寡多は、沿岸でも外洋でも特にプランクトンの存在と関係していると述べています。現在では、寒天培地に生育する海洋細菌は、全細菌数の1%にも満たないことが分かっており、フィッシャーが得た細菌は全体のほんの一部にすぎませんが、それでも当時としては(高塩分、高圧、低栄養といった厳しい環境のため、海洋には細菌はほとんど存在しないという考えもあった)画期的な研究成果だったといえるでしょう。

第2節 もう一つの食物連鎖

20世紀初頭、米国のスクリプス海洋研究所教授であったゾベルは、海洋微

生物学の基礎を築いたパイオニアとして知られています。1946年に出版された「Marine Microbiology (海洋微生物学)」は、この分野の原典とも言える著作です。ゾベルは、寒天培地による培養を基礎として、海洋細菌の分布や活性を調べました。彼が用いた寒天培地は、現在でもゾベル 2216E 培地 (表 1.2.1, 図 1.2.1) として海洋細菌の分離に広く用いられています。当時、海水中の細菌の計数法は、寒天培地に生じるコロニーの数から推定するコロニー計数法が主流でした。顕微鏡を用いて海水中の細菌数を直接的に計数する方法もいくつか考案され、コロニー計数法よりも 2~3 桁ほど高い値が得られることがわかっていました。その理由として、ゾベルは次のように述べています。「……一部の理由は、一種類の培地ではすべての細菌の栄養要求性を満たすことができないためであるが、主な理由は、海洋細菌がお互いに付着して塊をつくったり、粒子に付着しているためである。これまでの研究で、ほとんどの細菌は、粒子状の物質に共存していると報告されている。……」

当時は、海水中では単独で浮遊している細菌はほとんど存在せず、大部分がプランクトンやその死骸などに付着して生息していると考えられていました。つまり、寒天培地による計数では、塊状になったり付着した複数の細菌は、一つのコロニーとして計数されるために、見かけ上過小評価となる傾向にあるというわけです (現在では、過小評価になる理由は、ゾベルが最初に挙げた要因が大きく、ゾベルがいうところの付着細菌の割合は浮遊細菌に比べ圧倒的に小さいことがわかっています)。しかしながら、当時の直接法について、非常に手間がかかる上に、計数値の再現性に乏しく、生菌と死菌の区別ができないことから、「……せいぜい直接計数法では、培養法によって得られた結果の解釈を補足する程度のデータしか得られないだろう。」と述べています。ゾベルは、海水中の細菌の生態学的な役割を知るには、細菌数を把握することよりも、増殖や活性を調べるのがより重要であると考えていました。こうして、しばらくの間、海水中にどれくらいの数の細菌がいるのかを正確に把握する研究は、ほとんど省みられることなくすっぱりと抜け落ちてしまったのでした。

1960年代、先進諸国において公害問題が顕著になり、人々の環境に対する関心が急速に高まってきました。海に流れ込んだ汚濁物質や有害物質は、海

洋生物や生態系全体にどのような影響を与えるのか？ 有害物質が食物連鎖によって取り込まれ、私たちが食用とする魚介類に蓄積される危険性があるのか？ こうした疑問に答えるため、海洋生態系の詳しい調査が活発に行われるようになりました。海洋において汚濁の原因となる有機物や有害物質を分解する海洋微生物についても、様々な方法が考案され、その海水中での活性（働き具合）が測定されました。その結果は予想を上回るものでした。海水中に加えたアミノ酸や糖といった栄養源は、数時間で海洋細菌に消費されてしまったのです。多くの野外調査を通して、海洋細菌が非常に活発に有機物を利用し分解していることが明らかとなってきました。依然として海水中の正確な細菌数は不明でしたが、1970年代までには、海洋細菌の物質循環に果たす役割を具体的に知るために、より定量的な解析の必要性が強く認識されるようになってきたと思われまます。

1974年、ジョージア大学のローレンス・ポメロイは、海洋微生物の生態学的な役割に関する新しい考え方を提示する論文を発表しました。それまで知られていた一般的な海洋生態系の食物連鎖である「植物プランクトン→動物プランクトン→魚」とつながる経路の他に、もっと小さな生物たちつまり細菌や原生動物といった微生物による食物連鎖経路があるとする仮説を発表したのです。細菌は、単なる分解者ではなく、食物連鎖の中で有機物を転送する生産者あるいは消費者としても重要であると考えたのです。この論文をきっかけとして、海洋細菌の生態学的な寄与を把握するために、正確な計数法や生産速度の測定に関する研究が一気に始まりました。

第3節 ミクロの世界が見えてきた

1977年に米国ウッズホール海洋研究所のホビーらは、蛍光顕微鏡による直接計数法を発表しました。この方法によって、海洋細菌の生物量の正確な把握が初めて可能となり、その生態学的な重要性がますます強調されることとなりました。海水中の細菌の数が、1cc当たり数百や数千どころか百万細胞に達することが明らかとなったのです。この方法は、顕微鏡を用いて海水中の細菌を直接数えるものですが、単に数えるといってもそれほど簡単ではあ

りません。海洋細菌の大きさは、1ミリの千分の一から一万分の一程度です。これは、光を使って観察する光学式の顕微鏡としては最高の倍率である千倍の拡大率を用いて、ようやく丸か楕円形かといったおおよその形が識別できるくらいの大きさです。また、千倍の拡大率では、一度に見える範囲が非常に小さく限定されてしまうために、少なくとも1cc当たり10億細胞程度はないと、海水をそのまま観察しても数えるのに十分な細菌は見えません。そこで、細菌の大きさよりも目合いの細かいフィルターを用いて海水を濾過し、フィルター上に計数するのに十分な数の細菌を集めるのです。さらに、フィルター上にのっている細菌は、通常の透過光方式の顕微鏡では見ることができないため、細菌を蛍光色素で染色しておいて蛍光顕微鏡と呼ばれる特殊な顕微鏡で観察、計数を行います（第2章第1節で、詳しく説明します）。こうして計数された数は全菌数と呼ばれ、環境中の細菌を計数する標準的な方法として広く用いられています。この方法を使って様々な海域で細菌数が計数された結果、世界中のどの海へいっても1ccの海水中に十万から百万細胞の細菌が存在することが確実に became のです（図1.3.1）。

蛍光顕微鏡による直接計数法では、暗い背景に夜空の星のごとく光る点の一つずつ数えてゆきます。フィルター上の細菌を全部数えると、10万ないしは100万という途方もない数になりますから、実際にはその一部分を10~20箇所ほどランダムに選んで数え、フィルター面積との比率から全体の数を計算します。ところで、顕微鏡の下で見えている細菌は、みんな海の中で生きているのでしょうか？ 細菌の死骸を見ているのではないのでしょうか？ 当然のことながら、このような疑問が出てきました。直接計数法で使われる染色では、細菌の生死に関係なく細胞（正確には核酸を含む細胞）が存在すれば、すべて見えてきます。従って、顕微鏡下で見えている細菌が、海水中で生きていたものかすでに死んでいたものかは区別できないのです。

1979年、東京大学海洋研究所の当時大学院生であった木暮は、蛍光顕微鏡下で細菌の生死を判別しながら数えることができる巧みな方法を考え出しました。まず、とってきた海水に細菌の増殖を促す栄養源として酵母エキスを加えます。そのままでは、細菌がどんどん分裂して数を増やしてしまい、もとの海水にいた数はわからなくなってしまいます。そこで、酵母エキスと同

時に、細菌の分裂を妨げる物質であるナリディキシ酸を加えるのです。ナリディキシ酸は、分裂を阻害しますが、新しい細胞をつくるためのタンパク質の合成は阻害しません。そのため、生きている細菌の細胞は、酵母エキスの栄養を使って、分裂することなくタンパク質の合成をどんどん進めてゆき、数時間後には、異常なほど長く大きなものになるのです。極端に長く大きくなった細菌の細胞は、顕微鏡下で容易に判別することができます。海水に、酵母エキスとナリディキシ酸を加えた後に数時間培養し、極端に伸長した細胞（生きていた菌）とそうでない細胞（死んでいた菌）の数を直接計数法で数えるのです。こうして、海水中に“生きている菌”がどれくらいの割合で存在するのかを知ることができるようになったのです。この方法は、ダイレクト・バイアブル・カウント法、略してDVC法あるいは考案者の名前にちなんで木暮法と呼ばれ、その計数値は直接生菌数と呼ばれます(図1.3.2)。DVC法による直接生菌数は、全菌数の十分の一くらいの値となります。このことから、海水中の細菌の少なくとも1割程度は生きているらしいことが分かってきたのです(図1.3.3)。その後、“生きている菌”が示す酵素活性を利用する染色法や、細胞膜の透過性の違いを利用する染色法など、様々な方法で細菌の生死の判別が試みられました。その結果、現在ではおよそ半分くらいの細菌は生きていることを示す何らかの活性を持っていると考えられています。こうして、コッホ以来の伝統的な手法である寒天培地による培養法では、海洋細菌の数を圧倒的に過小評価していたことや、付着細菌よりもむしろ海水中に浮遊する細菌の方が量的に多いことが確実となったのです。

第4節 微生物ループの登場

1980年代後半、スクリプス海洋研究所のファルーク・アザムを中心とする研究チームは、新たに開発した測定法によって得られた成果をもとに、微生物による食物連鎖の具体的なモデルを発表しました(図1.4.1)。

植物プランクトン—動物プランクトン—魚という従来の食物連鎖(捕食食物連鎖)に対して、植物プランクトンや生物の死骸、糞粒などに由来する有機排出物—細菌—原生動物という食物連鎖が存在し、原生動物が動物プラン

クトンに捕食されることによって、捕食食物連鎖につながってゆくというものです。

アザムらは、この微生物を中心とする食物連鎖経路に対して、「微生物ループ」と名付けたのです。微生物ループの「ループ」とは、「環」を意味します。図 1.4.2 を見ると、ちょうど捕食食物連鎖に対して、微生物による食物連鎖経路が環を作るようになっていることが分かっていただけたと思います。「微生物ループ」モデルは、当時の海洋学者にとって食物連鎖の概念を一変させるものでした。これまでごく脇役にすぎないと考えていた微生物が、実際には主役に匹敵する役割を果たしているというものだったからです。

「微生物ループ」モデルの確立に貢献したのは、アザム研究室の大学院生であったフアマンによる研究でした。1980 年、彼らはチミジン法と呼ばれる、海洋細菌の増殖速度を測定する新しい方法を発表します。これは、チミジンという物質が、DNA の合成に利用されて取り込まれてゆく速度つまり DNA の合成速度から、増殖速度を推定する方法です。DNA は、アデニン、チミン、グアニン、シトシンという 4 種類の塩基のどれか一つが、五炭糖、リン酸に結合した状態で、長く連なったものです。チミジンは、チミンに五炭糖が結合したヌクレオシドと呼ばれる物質の一種です。ほとんどの細菌は、チミジンを与えるとこれを細胞内に取り込んで、リン酸基を付加した後に DNA 合成の材料として利用することができます（図 1.4.3）。

微生物ループが、生態系における食物連鎖において、どの程度重要であるかを知る一つの指標は、有機排出物の利用による細菌の増殖量です。多くの細菌は、有機物を栄養やエネルギー源として生育します。こうした有機物は、海洋では主な光合成生物である植物プランクトンによって合成されたものです。より多くの細菌が増殖すると、光合成生産物のより多くの割合が、微生物ループを経由する、つまり、捕食食物連鎖に対する微生物ループの寄与が相対的に大きくなるのです。比較的簡単な操作で、海水中での細菌の増殖速度を測定することができるチミジン法の登場によって、多くの海域で、植物プランクトンの光合成生産量と細菌群集の増殖量を比較することが可能となりました。その測定結果は、海洋細菌が生態系に及ぼす影響の大きさを強く印象づけるものでした。光合成によって生産された有機物の半分に相当する

有機物が、細菌の増殖に利用されていることが明らかとなったのです。

実際の測定方法は、あらかじめ、放射性同位元素で標識しておいたチミジン溶液を海水に加え、30分から1時間後に海水中の細菌細胞をフィルターで集めてDNAを抽出します。その放射活性を測定すると、どのくらいのチミジンがDNAに取り込まれたかを知ることができます。チミジン1モルの取り込みによるDNA合成は、およそ 2×10^{18} の細菌数の増加に相当することが経験的に求められていますので、この換算係数を用いて単位時間当たりどのくらいの細菌数の増加があったかを推定するのです（図 1.4.4）。

なぜ4種類ある塩基のうち、チミンのヌクレオシドを使ったのでしょうか？ アデニンでも良さそうですが？ 他の3種類の塩基は、もう一つの遺伝物質であるRNAの合成にも利用されてしまうからです。チミンだけは、DNAにしか含まれませんので、チミジンを使うことによってDNAの合成速度をより正確に測定することができるのです。実際には、チミジンが細胞内に取り込まれた後に、一部はウリジンに変換されてRNAの合成にも利用されます。そこで、放射性同位元素で標識する部分を工夫し、ウリジンに変換されると標識がはずれてしまうようなしかけになっています（図 1.4.3）。

純粋培養した細菌、たとえば大腸菌の増殖速度は、細胞数あるいは培地の濁り具合を一定時間ごとに測定すれば、簡単に求めることができます。海洋細菌の増殖速度についても同じように、海水をしばらく培養して細菌数の増加を一定時間ごとに計数すれば求めることができそうです。しかし、このやり方にはいくつかの問題があります。まず、栄養豊富な培地で生育する大腸菌が20分～30分に一回分裂して数を増やしてゆくのに対して、栄養の少ない海水中で生育する細菌の平均的な分裂時間は1日程度です。これでは、1日かけて培養してもやっと2倍程度の数の増加しか得られず、計数の誤差などを考えると十分に信頼できる値を得ることが難しいのです。また、後で述べますが、海水中には細菌だけでなく、これを食べる微生物も共存しています。長い時間培養すると細菌が増殖する一方で食べられて減少する影響が無視できなくなり、正確な増殖速度の把握がますます難しくなるのです。さらに、船を使った調査などにおける海洋観測ではたくさんの観測点を設け、それぞれの点について表層から深層まで何層もの海水を採取して測定を行いま

す。すべての試料について細菌の増殖速度を知るためには、簡単で早く結果のわかる方法が必要なのです。

チミジン法は、30分から1時間というごく短時間の培養で、比較的簡単に測定ができることから、実用性という面で理想的な測定方法だったのです。今日まで、いくつかの方法論的な問題点が指摘されていますが、基本的には海洋細菌の増殖速度を測定する標準法として世界中で広く利用されています。

蛍光顕微鏡によって細菌の直接計数を行っていた研究者は、細菌よりも少し大きな細胞の存在にも気がつきました。私たち人間も含めてほとんどの生物のDNAは、細胞内の特定の場所、核と呼ばれる膜状の構造物の中にまとまって存在します。このようなしっかりとした核構造を持つ生物は真核生物、そうでないものは原核生物と呼ばれます。蛍光顕微鏡で観察するために、DNAに結合する色素で染色すると、原核生物である細菌は細胞全体が染色されますが、真核生物の細胞は核の部分のみが強く染まって見えます。

細菌に混じって見える大きな細胞は、その大きさと核が見えることから真核性の微生物である原生動物と思われました。ちなみに、植物プランクトンもまた、真核性の微生物ですが、クロロフィルなどの光合成色素が特徴的な蛍光を発するため、蛍光顕微鏡で観察すると原生動物とは容易に識別することができます。

原生動物の数を数えてみると、1ccの海水中に数千から数万細胞もいることがわかりました。細菌ほどではありませんが、植物プランクトンよりも多く存在し、海洋生態系に大きな影響を与えているであろうことが容易に想像できる数字でした。こうして、ポメロイが1970年代に示唆した微生物による食物連鎖の具体像が次第に明らかとなり、「微生物ループ」モデルの発表に至ったのです。

第5節 シンクかリンクか？

微生物ループの概念が定着した1980年代後半以降、従来の捕食食物連鎖は、研究者の間ではクラシカル・フードチェーンつまり「古典的な食物連鎖」と呼ばれています。古典的な食物連鎖における微生物の主な役割は分解と再生

です。つまり、生物の死骸や糞に由来する有機排出物を、二酸化炭素、アンモニア、リン酸といった無機物に分解し、植物プランクトンの生育に必要な無機栄養塩を供給するというものです。

一方で、微生物ループにおける微生物は、生産者と見ることができます。植物プランクトン→動物プランクトン→魚から漏れ出た有機物を利用して細菌が増殖すると、続いて細菌を食べる原生動物が増殖します。さらに、この原生動物が動物プランクトンの餌となるのです。捕食食物連鎖によって十分に利用されなかった有機物は、細菌や原生動物といった微生物の活動によって回収され、再び大型生物の餌として利用されるのです。

現在の考え方では、海洋の微生物は、分解者と生産者の二つの生態学的な役割を持っているとされています。この役割の違いは、ちょうど再生（リサイクル）と再利用（リユース）の違いに例えることができます。微生物が分解者として機能すれば、有機物は原材料である無機物まで分解され、光合成によって再び有機物として再生されます（リサイクル）。生産者として機能すれば、大型生物が利用できない溶存態の有機物が、微生物細胞に変換され、捕食食物連鎖の消費者に再利用されてゆきます（リユース）。海洋の生態系では、このようにリサイクルとリユースをうまく組み合わせることで、植物プランクトンの光合成によって生産された有機物資源やそこから得られるエネルギーを無駄なく利用できるシステムになっているのです。これは、従来の古典的な食物連鎖の概念の中ではなかった、微生物ループを含む新しい海の食物連鎖の考え方です。

微生物ループは、そこに生息する生物にとって、海洋生態系をより資源効率の良いシステムにしているわけですが、私たち人間にとってはどうでしょうか？ シンクとは、英語で「沈む、減る」ことを意味する言葉です。対して、リンクとは、「つながっている」ことを意味しています。微生物ループモデルが発表されると、微生物による生産が魚類の生産にリンクしているのか、あるいは単に有機物のシンクとなっているのか、研究者の間で議論となりました。

私たちは、食物連鎖の最上位に位置し、漁業を通じた食料生産という形で、海洋生態系から直接的な恩恵を得ていますが、魚類生産に対する微生物ルー

プの寄与については、二通りの考え方があります。一つは、微生物ループを経た有機物が動物プランクトンを通じて魚の生産につながる（リンクする）ため、いったん捨てられたものが食料として再生される過程を通して、魚類生産の増加に寄与しているという考え方です。図 1.4.1 に示されたモデルのように、物質の流れが上位の動物プランクトンや魚までつながれば、リンクしていることとなります。もう一つは、微生物ループで転送される有機物の大部分は、微生物自身の活動によってループ内で消費されてしまう（シンクとなる）ため、さらに上位の動物プランクトンの生産にはつながらず、結果的に魚類生産の増加にはほとんど寄与しないという考え方です（図 1.5.1）。現段階では、どちらが正しいという結論には至っていません。

一般に食物連鎖において、餌となる生物の生産量のおよそ 1 割程度が次の生物の生産になると考えられています。例えば、光合成によって生産された有機物量を 100 とすると、植物プランクトン 植食性動物プランクトン 肉食性動物プランクトン 魚へと有機物が転送される過程において、魚類生産量は 0.1 となります。一方で、植物プランクトンから植食性動物プランクトンへの転送量 10 を引いて、残った 90 の光合成生産物のうち 50 の有機物量が、有機排出物として細菌生産に利用されると仮定します。これが、細菌—原生動物—肉食性動物プランクトン—魚へと有機物が転送されると、魚類生産量は 0.05 となります。その結果、全魚類生産 0.15 となり、そのうち捕食食物連鎖経由が 0.1、微生物ループ経由が 0.05 ということになります。従って、この場合は「リンク」と見なすことができます。この例でお分かりのように、魚類生産に対する微生物ループの寄与は、光合成による有機物生産量の何割を有機排出物として細菌が利用するかによって大きく違ってきます。もし、細菌生産量が上述のように 50 ではなく、10 になると微生物ループの魚類生産に対する寄与は、10 分の 1 以下になってしまいます。また、原生動物にはさまざまな大きさやタイプのものであり、あるものが別の原生動物に食べられることによって、食物連鎖の段階が一つ多くなる場合もあります。そうすると、微生物ループの寄与はほとんど無くなってしまいます（シンクとなっている）。従って、実際には対象とする生態系のタイプやそこに生息する生物の群集構造によってリンクとシンクの割合は大きく違ってくることが容易に

想像できます。二者択一で結論を出すというよりは、こうした二つの見方があることを前提として海洋生態系を解析することが重要であるということなのです。

第6節 物質はめぐる

地球上のほとんどの生物は、私達人間を含めて太陽からくる光エネルギーに頼って生きています。もし、太陽からの光が届かなくなると、植物が生育せず農業による食料供給はすぐに滞ってしまうでしょう。日照不足が農作物の収穫に大きく影響することは、誰もが知っています。農業がだめなら、魚介類などの水産物を食料にと考えますが、海洋生物もまた水中の植物である藻類が生育しなくなれば、すぐに絶えてしまいます。植物は、炭素、窒素、リンといった環境中に存在する様々な元素を材料に、太陽光エネルギーを利用して、生物が生きていくのに必要な物質（有機物）を合成します。これを「光合成」と呼んでいるわけですが、植物を動物が食べ、その動物をまた別の動物が食べるといった具合に、あらゆる生物の生育は、光合成による有機物生産とそれに続く食物連鎖によって支えられているのです。「光合成」と「食物連鎖」は、地球上の生態系を駆動している両輪であり、それらが互いによくかみ合ってはじめて、地球上の生物の生存が可能となるのです。

意外に思われるかもしれませんが、1年間に陸上と海洋の植物によって合成される有機物の量は、ほぼ同じくらいと推定されています。陸上では、しばしば樹木や草本といった大型植物やこれを食べる大型動物が生態系の主役であるのに対して、海洋では、しばしば植物プランクトンという顕微鏡サイズの藻類やその他の微生物が生態系の主役です。光合成と聞くと、普通の人には緑の山や大きな樹木が生い茂る森を思い浮かべるでしょう。実際に、ある研究者の推定によると、陸上植物の生物量は炭素量に換算して5600億トン、対する海洋の植物プランクトンは18億トンと圧倒的に少ない生物量しかありません。従って、光合成という言葉に対して山や森のイメージを抱くのは無理からぬことなのです。

ところが、年間でどれくらいの光合成量があるかという生産量で比較する

と、樹木が長い年月をかけてゆっくりと生長するのに対して、海洋の植物プランクトンは短い周期で新しい細胞をどんどん合成して生長するため、陸上植物と海洋植物プランクトンでほぼ同じくらいになるのです。つまり、陸上植物 5600 億トンが、10 年かけて 2 倍に生長すれば年間の生産量は、560 億トンになりますが、植物プランクトン 18 億トンが 10 日で 2 倍に生長すれば年間の生産量は 650 億トンになるというわけです。

現在、大気中の二酸化炭素濃度の増加による地球の温暖化が懸念されていますが、海洋における光合成や食物連鎖を中心とする生物活動は、この二酸化炭素の増減とも密接に関わっています。実は海洋には、大気中に存在する量の 50 倍にも相当する量の二酸化炭素が溶け込んでいます。ほんのわずかな大気中の二酸化炭素濃度の変化が、私たちの生存を危うくするような気候変動をもたらすことを考えれば、地球環境の安定化にもたらす海洋の役割がいかに重要であるか容易に想像できるでしょう。大気と海洋の間で、二酸化炭素濃度はある種の平衡状態にあり、その時々条件によって、海洋から大気へ二酸化炭素が放出されたり、逆に大気から海洋へ溶け込んだりしています。こうした条件を左右している主要な要因の一つが、光合成による二酸化炭素の吸収とそれに続く食物連鎖過程です。海洋表層の生物活動に伴って、一部の有機物は死骸や糞粒の形で深層へと沈降してゆきます。沈降した有機物量に相当する二酸化炭素が海洋表層から除かれることになり、これを補う分の二酸化炭素が大気から海洋へ吸収されるのです。これが、第 5 章で詳しく述べる「生物ポンプ」作用です。

生物ポンプ作用の大きさは、食物連鎖の過程で生じる沈降物質の量、その沈降速度、微生物による分解速度などに大きく依存していることになります。そうしたことから、捕食食物連鎖と微生物ループからなる海洋の食物連鎖と沈降する有機物との関係が、気候変動に深く関わる研究テーマとなっています。微生物ループを提唱したアザムは、1998 年にこれらの関係を模式的に示した論文を公表しています。そこでは、光合成によって生じる有機物の行方として、捕食食物連鎖、微生物ループ、沈降という 3 つの主要な経路が、お互いに競合するような関係になっています (図 1.6.1)。その時々、あるいはその海域に存在する生態系構造や構成する生物の活性によって、三者の競合

関係が変わってくるわけです。特に、微生物は、光合成、微生物ループ、沈降物質の分解という基本的なすべての経路に影響を及ぼします。従って、その群集構造や活性、有機物との相互作用を明らかにすることによって、海洋における物質循環と気候変動との関係をより良く理解することができると考えられているのです。

第2章 海の微生物を調べる

第1節 夜空に輝く星

海水中に存在する細菌は、フィルター上に濃縮した細菌細胞を蛍光色素で染色した後、蛍光顕微鏡で観察することによって計数します。蛍光色素の一つであるダピによる染色画像を見ると、大小さまざまな大きさに光る青白い点が暗い背景の中に散在し、あたかも夜空に輝く星を見ているような感じになります(図1.3.2)。第1章で述べたように、これまで様々な海域で計数が行われた結果、1 ccの海水中に100万細胞もの細菌の普遍的な存在が明らかとなり、「微生物ループ」という考え方が提案されるきっかけとなりました。ここでは、海の微生物を調べる第一歩であるこの直接計数法と呼ばれる方法について、もう少し詳しく説明したいと思います。

細菌計数用のフィルターには、ポリカーボネイトというプラスチック素材に、直径0.2マイクロメートル(1ミリの千分の一)の穴がたくさん空いているタイプのものを特に使用します。このサイズの目合いのフィルターでは、セルロース繊維を密に固めて作られたタイプものが一般的ですが、目合いが不揃いな上にフィルター表面が平滑でないために高倍率での顕微鏡観察には向いていません。実験室で培養した細菌の大きさは1~2マイクロメートルですので、もっと目合いの大きなフィルターでも良さそうですが、実際に海水中で見られる細菌の大部分は0.2~1マイクロメートルと半分以下の大きさしかないのでこの目合いサイズを使います。また、通常のポリカーボネイトフィルターは白色ですが、蛍光顕微鏡観察用に黒く染色したフィルターを使います。暗い視野の中で蛍光を発する対象物を観察しますので、背景からの

余分な反射光がないようにするためです（図 2.1.1）。

「蛍光」という言葉は、蛍光塗料、蛍光ペンといった具合に普段から比較的良く目にします。ある種の物質は、特定の波長の光を当てると、そのエネルギーを吸収して、一時的に通常の状態よりエネルギーの高い、いわゆる励起状態に移行します。励起状態からもとの状態にもどる時に、余分なエネルギーの一部を再び光として放出します。この放出される光が蛍光と呼ばれ、蛍光を発する物質は蛍光物質あるいは蛍光色素と呼ばれます。はじめに当てる光は、励起光と呼ばれますが、一般に蛍光の波長は、励起光の波長よりもわずかに長波長側に変化します。虹の色の順番を思い浮かべて下さい。光の波長は、短い方から長い方にかけて、紫外光、青色光、緑色光、オレンジ色光、赤色光、赤外光へと変化します。従って、紫外光で励起すると青色の蛍光が、緑色光で励起するとオレンジから赤色の蛍光が出ることになります。

蛍光顕微鏡は、普通の顕微鏡とどう違うのでしょうか。最も一般的な顕微鏡では、対象物に下から光を当て、そこを通過してくる光をそのまま観察します。明るい背景に、対象物は暗い陰として認識されます。蛍光顕微鏡では、対象物に励起光を当て、そこから出てくる蛍光を観察します。暗い背景に様々な色に染色された対象物が見えるわけですが、先に述べたように、励起光と蛍光でそれぞれに特定の波長がありますから、それらを分けるために普通の顕微鏡よりも複雑な光学系が必要になります。

現在広く使われているのは、落射型の光学系をもつ蛍光顕微鏡で、次のようなくみになっています。対物レンズから接眼レンズにつながる鏡筒の途中に、光源からの励起光が横から入ってきます。励起光は、光フィルターによって特定の波長に調整された後、ダイクロイックミラーと呼ばれる特殊な鏡で対物レンズに向けて反射され、対象物に照射されます。励起光の照射によって発した蛍光は、ダイクロイックミラーを通過して接眼レンズを經由して私たちの目に入ります。ダイクロイックミラーは、光の波長によって透過率が変化する性質があり、波長の短い励起光は反射し、これよりも波長の長い蛍光は透過するようなしかけになっているのです。観察したい蛍光色素の励起—蛍光特性に応じて、適当な励起フィルターとダイクロイックミラーの組み合わせを使用します（図 2.1.2）。

海洋細菌の計数に使われる蛍光色素には様々な励起と蛍光波長の組み合わせをもつものがありますが、共通しているのは、いずれの色素も生物の DNA や RNA といった核酸に結合する物質であるということです。核酸を持っていることは、生物である一つの証拠です。海の中には、細菌以外にも土壌や生物の死骸などに由来する微小な粒子がたくさん存在します。核酸を特異的に染色する色素を使うことによって、生物とそうでない粒子を見分けることができるのです。

実際に良く使用されている蛍光色素は、アクリジンオレンジとダピという名前の色素です。アクリジンオレンジは、青緑色の励起光でオレンジの蛍光を、ダピは紫外励起光で青色の蛍光を発します(図 1.3.2)。最近では、サイバークリーンという名前で、青色の励起光で緑色の蛍光を発する色素が登場してきました。この蛍光色素は、これまでのものと比べてわずかな量でも強い蛍光を発し、微量の核酸を感度良く検出できるため、細菌と同時にウイルスの計数にも使用されています(図 1.3.1、2.1.3)。

もちろんウイルスを計数するためには、フィルターが目合いも細菌計数用よりもさらに小さな 0.01 マイクロメートルのものを使います。ウイルスの大きさは光学顕微鏡の理論的な解像度を下回るため、通常の観察には電子顕微鏡が必要となりますが、試料の前処理などに手間がかかるなどの理由で、たくさんの試料を計数するには不向きでした。しかしながら、蛍光色素で染色して、形ある物としてではなく、光の点として蛍光顕微鏡で認識することによって、はるかに簡単に計数ができるようになりました。この計数法の普及によって、海洋におけるウイルス粒子の数が広範囲にわたって、定量的に把握できるようになったのです。

第2節 生きているけど培養できない

メリーランド大学のコルウェル教授のグループは、木暮によって考案された DVC 法(図 1.3.2)を用いて、ある実験を行いました。コレラ菌や大腸菌を自然海水中に入れて、従来のコロニー形成を指標とする生菌数、蛍光顕微鏡を用いた直接計数法による全菌数、DVC 法による直接生菌数という三つの

違った方法で、時間を追って菌数の変化を調べたのです。

その結果、全菌数はほとんど変化しませんでした。実験開始から数日後には生菌数が急速に減少し始めました。もし実験結果がそれだけであれば、生菌数の減少は単純に細胞の生存率の低下によるものであると解釈されたでしょう。しかし、DVC 法による直接生菌数は、生菌数と全菌数の中間的な値で減少を示したのです（図 2.2.1）。

DVC 法では、酵母エキスとナリディキシ酸を加えた後に直接計数を行いません。生きている細菌は、酵母エキスの栄養を使ってタンパク質を合成する一方で、DNA 合成の阻害物質であるナリディキシ酸の作用によって分裂を阻害されるため、数時間後には異常なほど長く大きな細胞となります。この長く大きくなった細胞を計数するわけですが、その数がコロニー形成を指標とする生菌数よりも多いということは、一部の細胞はコロニーを形成できなくなった、つまり分裂能を失ってしまったが、タンパク合成という生物活性を保ったまま残存していたと考えられたのです。そこで、1985 年、この現象に対して、Viable but Nonculturable（「生きているが培養できない」という意味）、略して VNC あるいは VBNC という用語が提案されたのです。ブイエヌシー菌といっても、説明なしにはいったい何のことやらわからないということで、木暮はその日本語訳として「潜生菌」という用語を提案しています。

この「生きているが培養できない」VNC 状態は、病原微生物学の分野において、潜在的にかなり重要な問題を孕んでいます。通常、病原菌の追跡は、培養法によって行われます。これは、コッホによって確立された、培養によって微生物の性状や機能を明らかにしていくという微生物学の伝統な考え方に基づいており、そこには、もし病原菌が生存していれば、かならず培養できるという前提があります。しかし、病原菌が潜生菌状態にあれば、この前提は正しくないこととなります。

これまでのところ、具体的にどのようなしくみで潜生菌になるのかわかっていません。ある病原菌が、分裂能を失って潜生菌状態になったとして、そのまま回復することなく死滅してしまえば何の問題もありません。しかし、一時的に分裂能を失ったものの、適当な条件下で再び回復し、病原性を発揮しうる状態であれば、これを放っておくわけにはいかなくなります。培養し

でも寒天培地にコロニーをつくらないので、その追跡や防止対策は非常に難しいものとなります。実際に、実験室でコロニーをつくらない潜生菌状態になったコレラ菌やピロリ菌に熱処理を加えると、コロニー形成能が回復することが報告されていますので、いないはずの病原菌が突然出現し、感染経路がまったくわからない、という状況は現実に十分起こりうると考えられています。

1996年以降、腸管出血性大腸菌0157:H7による集団感染の事例が国内で報告されるようになりました。この菌は、1982年にアメリカで初めて病原菌として報告されましたが、以後15年くらいの間には日本にまで分布を広げたとされています。1996年7月に境市で発生した、0157による集団感染では、原因食と疑われた野菜やその栽培施設から当該菌は分離されませんでした。木暮らは、DVC法と大腸菌0157に特異的に結合する抗体による検出方法を組み合わせ、東京近郊の河川水を調査し、いずれの河川からも1cc当たり、 $10^2 \sim 10^3$ の0157抗体に反応する菌を検出しています。いくつかの食中毒原因菌は、環境中にVNC状態で常在し、こうした細菌が、見えない感染源となっている可能性があるのです。

第3節 自然環境中の微生物

実は、自然界においては細菌が培養できない状態にあるのはごく普通に見られる現象であると考えられています。第1章で、コロニー計数によって得られる海水中の細菌数は、実際の海洋細菌数よりも圧倒的に過小評価となることを述べました。例えば、東京湾において、海水中の細菌の生菌数を調べると、1cc当たり $10^3 \sim 10^4$ 程度であるのに対し、DVC法によって計数したタンパク合成能を有する菌数は、これより一桁から二桁も多く検出されます。つまり、実際に海の中にいて活動している細菌のうち、培養法によって分離培養できるものは、数パーセントあるいはそれ以下しかないということです。

なぜ数パーセントしか培養できないのでしょうか？ また、培養できない圧倒的多数の細菌は、いったいどのような細菌なのでしょう？

これには、二つの説明が考えられます。一つは、本来は培養できるはずの

細菌が、海水中ではほとんどが潜生菌状態になるために培養できないという説明です。二つ目の説明は、培養できない圧倒的多数の細菌は、私たちがこれまで分離培養したことのない未知の細菌で、一般的な培地や培養法では生育しないものであるというものです。

もし、前者の説明が正しいとすると、培養法によって海水中から細菌を分離し、それがどんな種類のものか、どういった性質を持っているのか詳しく調べることによって、海における細菌の分布や役割について知ることができはるはず。しかし、後者の説明が正しいとすると、分離培養した細菌について調べるだけでは、海の細菌について十分な情報を得たことにはならない、むしろそうした細菌は実際の自然環境中ではごく少数派であり、せっかく時間をかけて調べても、得られた結果が、実際に海で起きていることを反映していない可能性さえ出てきます。

いったいどちらの説明が正しいのか、海の微生物を研究する研究者にとってこれは研究の根本に関わる問題でした。答えを見つけるには、海にいる培養できない細菌がどのような種類のものなのか、分離培養された細菌と同じなのか違うのかを知る必要があります。

培養できない細菌の種類をいったいどうやって調べるのか？ もし、私たちが 19 世紀のコッホの時代に生きていたら不可能でしょうし、20 世紀前半のゾベルの時代でも無理でしょう。20 世紀後半における、分子生物学の急速な発展のおかげで、初めて可能となり、私たちは問題の答えを見つけつつあります。

自然環境中から培養によって細菌を分離する代わりに、細菌の様々な遺伝情報を記録している DNA や RNA を分離し、これを解析することによって、環境中に生息する培養できない細菌に関する情報を、得ることができるようになったのです。分子生物学は、1960 年代あたりから、核酸やタンパク質といった、生物体を構成し機能させている物質への理解の深まりと共に、細菌の研究の重要な部分を占めるようになりました。そして、細菌の増殖や分裂機構に関する基礎的な知見の蓄積によって、1970 年代までには外来 DNA を細菌細胞内に導入し、その複製や発現を制御できるようになりました。いわゆるバイオテクノロジーと呼ばれる技術の登場です。細菌の生理、生化学的基礎

研究に端を発するバイオテクノロジーは、現在さまざまな分野に応用され、私たちの社会に貢献しています。

分子生物学の進展によって、生物の様々な遺伝子配列を解読することができるようになり、これまで解読された膨大な種類の遺伝子配列は、国立遺伝学研究所（日本）、国立バイオテクノロジー情報センター（米国）、欧州生命情報学研究所などの公的機関によってデータベース化され、インターネットを通じて無償で公開されています(表 2.3.1)。ある遺伝子配列を解読した後、このデータベース上で検索を行ない、得られた遺伝子に一致するものやこれに類似したものを探すことによって、それがどのような生物のどのような遺伝子であるかを知ることができるのです。

自然環境中の微生物についても、海水や土壌といった環境試料から DNA を抽出し、そこに記録されている遺伝子配列を解読しデータベース上で検索することによって、その試料中にどのような種類の微生物がいるか、あるいはどのような機能をもった遺伝子があるかという情報を得ることができるのです。このような手法を用いれば、培養できるかできないかに関係なく、そこに生息する微生物全体を対象に研究を行うことができますし、先に述べたような環境中の病原微生物が潜生菌状態にあって培養できなくても、対象とする微生物の遺伝子情報を目印にして追跡することもできるのです。

海にいる培養できない細菌がどのような種類のものなのか、分離培養された細菌と同じなのか違うのか？ この問題に対して、実際にどうやってその答えが得られるのか、そして現在どのような答えが得られつつあるのか、以下の節で見てゆきましょう。

第4節 進化を比べる時計

異なる生物間で、ある種のタンパク質のアミノ酸配列や DNA/RNA の塩基配列の違いを比較すると、それらの系統関係つまり祖先とする生物からいつ分岐したのかを推定することができます。生体内の酵素や細胞膜を形作っているタンパク質は、多数のアミノ酸が連なって構成されています。このアミノ酸の配列情報は、さらに塩基の配列情報つまり遺伝情報として生物体の核酸

(DNA と RNA)の中に存在します。こうした遺伝情報をもつ DNA や RNA あるいはこうした情報を反映するタンパク質分子は、情報高分子と呼ばれます。情報高分子におけるアミノ酸や塩基の配列は、生物の進化に応じて一定の割合で置き換わってゆくことが知られています。例えば、血液中で酸素を運搬する分子であるヘモグロビンの鎖と呼ばれる部分は、140 個のアミノ酸から構成されています。この配列を様々な生物について相互に比較し、その違いの割合をとると、化石試料から推定された生物の分岐年代にほぼ比例するということが分かっています(図 2.4.1)。つまり、異なる生物間で情報高分子のアミノ酸や塩基配列の違いを比較すると、両者の系統関係を推定することができます。こうした高分子は、進化の度合いを測る時計という意味で、分子時計あるいは進化時計と呼ばれています。

ある情報高分子を分子時計として利用するには、それにふさわしいいくつかの条件があります。まず、多くの生物を比較するために、様々な生物が共通に持っている分子である必要があります。また、起源を同じくし、現在でも同じ様な機能を果たす分子であり、比較する配列に適度な共通性と適度な変異があることも必要です。このような分子時計として適した性質を有する高分子として、最も広く利用されている分子が、リボゾーマル RNA (rRNA) です。生物の細胞内には、リボゾームと呼ばれる構造体があり、タンパク質の合成装置として働いています。リボゾーム自身は、タンパク質と RNA からなる複合体ですが、その RNA 部分が rRNA です。

リボゾーマル RNA は、さらに三つの大きさの異なる RNA 分子からできています。これらの RNA 分子は、あらゆる生物に共通で、構造や機能もほとんど同じですが、原核生物と真核生物でわずかに大きさが異なります。原核生物の場合は、5S rRNA、16S rRNA、23S rRNA、真核生物の場合は、5S rRNA、18S rRNA、28S rRNA と呼ばれています。数字のあとに続く S は、スベドバーグ (Svedberg) の略で、分子の大きさの指標となる単位です(図 2.4.2)。5S、16S、18S、23S、28S の順に分子は大きく、構成する塩基の数も多くなります。中でも、16S と 18S rRNA は、生物の系統、特に微生物の系統を調べるためにこれまで最も良く利用されてきた分子で、2004 年 7 月現在では微生物の 16S rRNA として 9 万 7 千種類の塩基配列情報が、データベースに登録されていま

す。このデータベースは、米国のミシガン州立大学に設けられた微生物生態学センターによって進められている、リボゾーマル・データベース・プロジェクトの一環として構築され、他の rRNA に関するサービスと共に、世界中の科学者が利用できるようにインターネットを通じて無償で公開されています (<http://RDp.cme.msu.edu/html/>)。現在でも新しい配列が次々に登録され、月単位でデータベースが更新されています。

第 5 節 微生物の血統証明

1970 年代、リボゾーマル RNA の分子時計としての有用性をいち早く見出し、その塩基配列を解読比較することによって、生物の進化や系統を論じたのは、米国イリノイ大学のウーズでした。ウーズの研究グループは、微生物の 16S rRNA を中心に、真核生物を含む様々な生物の rRNA の塩基配列を調べ、これらを相互に比較することにより、地球上のすべての生物がどのような進化の道筋をたどってきたのかを明らかにしようとしたのです。

この研究の中で、ウーズは、ある種の原核生物が他の原核生物や真核生物と全く異なる塩基配列をもつことに気がつきました。真核生物ではないが、それまで知られていた原核生物である細菌とも全く異なった第三の生物群が存在することに気がついたのです。彼らは、この第三の生物群をアーキバクテリア（古細菌）と名付け、従来の細菌群をユーバクテリア（真正細菌）と呼ぶことを提案しました。

その後 1980 年代の中頃には、アーキバクテリアは、アーキア（この場合も古細菌と訳されます）として、ユーバクテリアはバクテリア（細菌）として、従来の真核生物とは独立した分類群として生物学者の間で広く認知されるようになりました。地球上の生物は、進化という観点から見ると、動植物を含む真核生物、細菌、古細菌という三つに大きく分類されることが、ウーズ博士の先駆的な研究によって明らかになってきたのです（図 2.5.1）。

分子時計による系統解析（分子系統解析）は、生物の分類、同定に大きな変化をもたらしました。生物の中でも特に、化石試料もなく形態の変化にも乏しい細菌は、その細菌がもつ様々な性質、例えば温度、塩分、酸素など生

育できる環境、生育に利用できる物質の種類などを調べることによって分類されています。分子系統解析は、細菌の分類にこれまでなかった進化という概念をもたらしたのです。

これまでは、ある未知の細菌が、どのような分類群に属するどのような種類のものなのかを調べるいわゆる細菌の同定作業は、先に述べたような様々な性質を一つ一つ丹念に調べて、すでに種類の分かっている細菌と相互に比較することによって行われてきました。しかし、分子系統解析によって、ごく短時間でこうした同定作業ができるようになったのです。未知の細菌の16S rRNAの塩基配列を既知の細菌のものと比較することによって、それらが同じものか違うものか、あるいはどのような系統に属するものかといった分類が、簡単にできるようになったのです。もちろん、こうした比較同定を行うためには、これまで分かっている様々な細菌の16S rRNAの塩基配列をあらかじめ調べておく必要があります。既知の細菌についてデータベースがあれば、新たに見つかった細菌の配列情報をデータベースに蓄積された情報と比較することにより、瞬時に同定ができるのです。

1989年、ウーズは、オルセンと共に、16S rRNAデータベースの構築を目指し、リボゾーマル・データベース・プロジェクトを始めました。1992年には、ウーズの研究グループが出した471種類の配列情報が初めて公開されました。その後1998年に、このプロジェクトはミシガン州立大学のチームに引き継がれ、開始から十数年を経た現在では7万9千種類の配列情報を有するすばらしいデータベースとなっています。

第6節 培養できない微生物への挑戦

1980年代、RNA酵素の研究を行っていたペースの研究グループは、rRNA遺伝子による系統解析を自然環境中に存在する未知の細菌の識別に利用する研究を始めました。この研究グループには、その後リボゾーマル・データベース・プロジェクトを始めたオルセンも参加していました。培養によって細菌細胞を増やすことはできなくても、細菌細胞に含まれるDNAやRNAといった遺伝物質を環境試料から回収することはできます。回収されたDNAやRNAに

は、そこに存在するさまざまな細菌種に由来する rRNA 遺伝子が含まれているはずで、この rRNA 遺伝子を何らかの方法で分離して、その塩基配列を解読し、すでに配列と種類のわかっている細菌のものと比較することによって、環境中に存在する培養できない細菌の種類や系統関係を知ることができると考えたのです。彼らは、5S rRNA と 16S rRNA をそれぞれ使う二つの方法を考案しました。

まず、5S rRNA を使って、イエローストーン国立公園にある温泉の細菌や、海底の温泉である熱水噴出口に生息する特殊な無脊椎動物に共生する細菌を対象にその方法が試されました。温泉池の底に付着した細菌のかたまりや無脊椎動物の組織から RNA を抽出し、電気泳動によって異なる細菌種ごとに 5S rRNA を分離し、その塩基配列から細菌の系統とおよその種類を明らかにしたのです。

1984 年に最初の論文が発表されましたが、この方法には技術的な限界がありました。対象とする環境の細菌相が単純で、試料中に含まれる細菌が数種類しかない場合は、電気泳動によって異なる細菌種に由来する 5S rRNA をうまく分離できますが、もっと細菌相が複雑な環境でその種類が多くなると電気泳動では完全に分離できず塩基配列の解読までもってゆけないのです。また、仮にうまく分離できて配列が読めたとしても 500 塩基しかない 5S rRNA では、複雑な細菌相の環境で複数の細菌を十分に識別できるだけの違いが出ないことも予想されました。

そこで考えられたのが、クローニングという手法を使って 16S rRNA を調べる方法でした。クローニングでは、外来の遺伝子断片を大腸菌の細胞内に組み込み、大腸菌を培養することによってその遺伝子断片を増やし、さらに寒天培地上で大腸菌のコロニーを作らせることによって、目的の遺伝子断片が組み込まれた大腸菌を単離することができます。ただし、組み込むことができる遺伝子断片は RNA ではなく DNA ですから、16S rRNA の場合は RNA そのものではなくて、これを合成するもとになる遺伝子 16S rDNA をクローニングすることになります。

環境試料から細菌由来の DNA を抽出すると、そこには様々な細菌に由来する様々な DNA 断片が含まれています。この DNA 断片をランダムにクローニン

グしてゆきます。いわゆる“ショットガン”クローニングと呼ばれるやり方です。クローニングによって外来遺伝子断片を組み込まれた大腸菌の集まりはクローンライブラリと呼ばれますが、こうして、環境中の細菌に由来する様々な遺伝子断片を含むクローンライブラリを作ることができます。

次に、このライブラリの中から 16S rDNA を含む断片が組み込まれた大腸菌コロニーを同定し、塩基配列の決定を行うのです。16S rRNA 遺伝子は、1500 塩基対と 5S rRNA の 3 倍の塩基数があるために、ある程度複雑な細菌相でも識別に十分な違いが得られると考えられたのです。

環境中の細菌に由来する遺伝子ライブラリを作成し、そこに含まれる 16S rDNA の塩基配列から培養できない細菌の系統を調べるというのは、すばらしいアイデアでした。しかし、このアイデアが出された当時の技術ではライブラリの中から目的とする 16S rDNA を含む断片を探し出し、1500 塩基対の配列を決定するのは容易な作業ではありませんでした。環境試料中に存在すると思われる何十種類あるいは何百種類の細菌について一つ一つ断片を探し出し、塩基配列を決定するのは気の遠くなるような作業に思えたに違いありません。このアイデアを実現するにはさらに新しい技術が必要でした。

ちょうど同じ頃、米国の化学会社の研究員であったマリス博士によって、特定の DNA 断片を試験管内で人工的に増幅する画期的な方法が考案されました。ポリメラーゼ・チェーン・リアクション法、通称 PCR 法と呼ばれる方法です（図 2.6.1）。PCR 法では、DNA 合成酵素とその材料となるデオキシリボ三リン酸、合成反応の鋳型となる試料 DNA、増幅する場所を決める短い DNA 断片であるプライマーを加えます。試料 DNA を加熱変性して、2 本鎖から 1 本鎖にした後に温度を下げると、一本鎖になった鋳型 DNA にプライマーが結合します。さらに、DNA 合成酵素の働きによってプライマー部位から鋳型 DNA に相補的な配列が合成され、もとの DNA が 2 倍に増えます。再び温度を上げると、新たに合成された DNA が一本鎖の鋳型となり、温度を下げると新たな合成が進みます。こうしてねずみ算式に DNA 断片が増えてゆくのです。

初めて PCR 法が開発されたときは、変性のために温度を上げるたびに DNA 合成酵素が活性を失ってしまうため、一回の反応毎に酵素を加えてやる必要がありました。ほどなく、高温で生育する細菌から耐熱性の DNA 合成酵素が

発見され、その利用によって必要な試薬を加えた後は、温度を上下するだけで DNA の増幅が可能となり、PCR 法は一気に普及しました。その後、試験管内で簡単に DNA 断片を増幅できる PCR 法は、生物学、生化学、生理学など多くの分野に革命をもたらし、1993 年マリス博士は PCR 法の開発によってノーベル化学賞を受賞しました。

1980 年代後半に出現した PCR 法によって、ペースの 16S rDNA を解析するアイデアは技術的に実現可能なものとなってきました。試料 DNA をショットガンクローニングし、ライブラリの中から 16S rDNA を含む大腸菌クローンを探し出す代わりに、試料 DNA を鋳型として PCR 法を用いて 16S rDNA のみを試験管内で大量に増幅します。この増幅された 16S rDNA を使ってクローンライブラリを作成すると、試料中に含まれる複数の細菌に由来する様々な配列の 16S rDNA から成るライブラリが得られるのです。このライブラリには、はじめから 16S rDNA の断片しか含まれていませんから、あとは塩基配列を決定すれば良いわけです。ライブラリに含まれる 16S rDNA の多様性は、試料を採取した環境中に存在する細菌の多様性を反映していると考えられます（図 2.6.2）。こうして、環境中の培養できない細菌の 16S rDNA を分離する手法が格段に進歩し、いよいよ本格的な解析が始まったのです。

培養できない海洋の細菌について、16S rRNA 遺伝子を使った解析を初めて行ったのは、オレゴン州立大学のジオバノーニの研究チームでした。1990 年フロリダ半島と西インド諸島に隣接するサルガッソー海における調査結果が、米国の科学雑誌「サイエンス」に発表されました。

水深 1~2 m から採取した海水を孔径 0.1 マイクロメートルのフィルターで濾過し、海水中の細菌細胞を濃縮します。集めた試料から DNA を抽出、PCR 法を用いて 16S rDNA を増幅し、クローンライブラリが作成されました。ライブラリから 12 個のクローンをランダムに選びそれぞれの大腸菌に組み込まれた 16S rDNA の塩基配列を決定し、系統解析を行ったのです（ライブラリにストックされた個々の大腸菌細胞は、クローンと呼ばれます）。その結果、9 種類の異なる塩基配列が得られました。得られた配列のうち、4 種類は藍藻類シネココッカスもしくはこれに近縁な系統の細菌に由来するものでした。残りの配列は、大まかな分類ではアルファプロテオバクテリアと呼ばれる分

類群に属するものであることがわかりました。ところが、これらの配列はお互いに似通っているものの、これまで培養されているどの細菌とも異なっていました。それまで知られていない全く新しい系統の細菌に由来すると考えられ、この新しい系統に SAR11 という呼称がつけられました。さらに、ハイブリダイゼーションと呼ばれる方法を使って、SAR11 に特徴的な配列をもつ rRNA が、サルガッソー海の海水試料中にどのくらい含まれるかを調べたところ、驚くべきことに全細菌 RNA の 15% に相当するという結果が得られたのです。1990 年代に入ってようやく、海洋に生息する培養できない細菌は、それまで私たちが全く知らない新しい系統の細菌であるらしいことがわかってきたのです。

第 7 節 微生物を釣る

デオキシリボ核酸いわゆる DNA は、2 本の鎖状の分子がらせん状にからみあった二重らせん構造をもっています。アデニン、チミン、グアニン、シトシンという 4 種類の塩基のどれか一つ、五炭糖、リン酸基でヌクレオチドと呼ばれる一つのユニットを形成し、五炭糖の一部が別のヌクレオチドのリン酸基と結合した状態で、それぞれ 1 本の鎖状の構造が作られています。さらに、4 種類の塩基は、その頭文字をとって A、T、G、C と略して表記されますが、A は T と G は C と結合しやすい性質があり、これらの塩基が対（つい）をなした状態で 2 本の鎖は結合しています。新たに DNA が合成される時は、2 本の鎖が 1 本ずつに解離し、それぞれの鎖における塩基の配列と対になるようにヌクレオチドが結合してゆき、新しい鎖が作られてゆきます。こうしてもとの DNA と全く同じ塩基配列をもつ 2 本鎖が複製され、配列に記録された遺伝情報が新しい細胞に正確に伝えられてゆくのです。

ある塩基配列と対になるような配列は“相補的”配列と呼ばれますが、お互いに相補的な配列をもつ一本鎖の DNA 同士を人為的に結合させ二本鎖の DNA を形成させることを、ハイブリダイゼーションと言います。リボ核酸いわゆる RNA の場合は、チミン(T)の代わりにウラシル(U)が結合しますが、同様にハイブリダイゼーションを行うことができます。

ハイブリダイゼーションは、DNA や RNA の混合物から特定の塩基配列を探し出すのに威力を発揮します。例えば、環境試料から抽出された RNA 混合物の中に、ある特定の配列をもつ rRNA がどれくらいあるかを調べることができます。特定の配列に相補的な配列をもつ一本鎖の核酸をプローブと言います。ある細菌の 16S rRNA に特有の塩基配列部分があれば、その配列に相補的なプローブを人工的に合成することができます。このプローブを蛍光色素や放射性同位元素で標識しておき、RNA の混合物に加えると、そこに含まれる相補的な配列部分に結合します。結合した標識を測定することによって、目的とする細菌の 16S rRNA が存在するかどうか、どれくらい存在するかを知ることができるのです。

ハイブリダイゼーションは、細胞から抽出された核酸だけでなく、核酸が細胞内に存在する状態でも行うことができ、インシチュー・ハイブリダイゼーション (ISH) と呼ばれます。ある細菌の 16S rRNA に特異的に結合するプローブを蛍光色素で標識し、フィルター上に捕集した海水中の細菌群集に対して ISH を行うと、標的とする細菌だけを蛍光顕微鏡で観察することができます。蛍光色素で標識したプローブを用いる方法を特に、フローレンス・インシーチャー・ハイブリダイゼーション法 (頭文字をとって通称 FISH “フィッシュ” 法) と言います。特定の遺伝子に特異的な塩基配列を認識して蛍光染色を行うことから、“遺伝子染色” といった言い方で呼ばれることもあります。培養できない細菌であっても、16S rRNA の塩基配列がわかれば、適当なプローブを合成して FISH 法を行うことにより、その存在量や分布を知ることができるのです (図 2.7.1)。

海にはどんな種類の細菌が多いのでしょうか？ 川の細菌と海の細菌は違うのでしょうか？ FISH 法を使うと、こうした疑問にある程度答えることができます (図 2.7.2)。ある程度と言ったのは、この方法は比較的大まかな分類群で簡単に識別するのに適した方法であり、非常に細かな種類まで知りたい場合は、先の節で述べたクローンライブラリー法によって識別します。

デラウエア大学のコットレルとカーチマンは、川から海にかけて塩分濃度の変化と共に、細菌の分類群組成がどのように変化するかを FISH 法によって調べています。その結果によると、全細菌のうち 5 割から 8 割を占める主要

な細菌群は、アルファプロテオバクテリア、ベータプロテオバクテリア、ガンマプロテオバクテリア、サイトファーガの4つの大きな分類群に属するものでした。このうち、アルファプロテオバクテリアは、塩分濃度が0.01%、9%、16%、29%と増加するにつれて、その割合が増加し、反対にベータプロテオバクテリアは、その割合が減少することがわかりました(図2.7.3)。つまり、アルファプロテオバクテリアは海に多く、ベータプロテオバクテリア川に多い、ガンマプロテオバクテリアとサイトファーガは海と川の両方に広く分布しているという傾向がはっきりと現れていたのです。なぜ、このような傾向が出るのか、何がその分布を決めているのか、現在のところ分かっていません。川から海へとつながっている一つの水域であるにもかかわらず、このようなはっきりとした違いが見られるということは、それぞれの分類群毎に、強い選択圧がかかっていることを示唆しています。塩分濃度やその他環境要因に対する生理的応答や増殖速度の違いなのか、あるいは原生動物による捕食やウイルスによる溶菌作用に伴う細菌の減耗率の違いがあるのか、さらなる研究が必要です。

第3章 多彩な海の微生物たち

第1節 海はウイルスだらけ

「ほんのスプーン一杯の海水中に、東京都の人口に匹敵するくらいのウイルスが存在している」と聞くと、何やらずいぶん体に悪そうな気がしますが、海水中に存在するウイルスの大部分は、人ではなく細菌に感染するバクテリオファージと呼ばれる種類だと考えられています。

ウイルスは、タンパク質の殻の中にDNAやRNAといった遺伝情報が書き込まれた物質が入っているだけのシンプルな構造をしており、自分自身ではその複製に必要な合成装置を持っていません。複製に必要な情報が書き込まれた遺伝子を他の生物の遺伝子に組み込むことによって、他の生物の合成装置を操作し、新しいウイルスを作らせるのです。一般に、ウイルスや寄生虫によって感染される生物を宿主と呼びます。ウイルスは、宿主に感染して初め

て自分自身を複製し、増殖することができるのです。従って、海水 1cc 当たり 100 万細胞も存在する細菌は、ウイルスにとって格好の宿主というわけです。

蛍光顕微鏡による海洋細菌計数法の普及によって、海水中における細菌の普遍的な分布が明らかとなり、世界中どこの海にも常に 1cc 当たり 10 万～100 万細胞の細菌が存在することが分かってきました。この細菌数は、あまり大きく変動することなく一定に保たれています。一方、チミジン法による海洋細菌の増殖速度の測定によって、海水中の細菌群集は、平均的に 1 日 1 回分裂しながら増殖していると推定されています。ある時、ある場所における細菌数は、増殖と死滅のバランスによって決定されますので、細菌数が一定に保たれているということは、毎日 10 万～100 万の新しい細菌が生産されている一方で、同じ数の細菌が何らかの原因によって死滅していることとなります。

その大きな要因の一つは、原生動物による捕食で、もう一つは、ウイルスによる溶菌です。海洋におけるウイルスの存在は古くから知られていましたが、その生態学的な重要性が指摘されるようになったのは 1980 年代後半になってからです。従って、微生物ループの最初のモデルではウイルスは入っていません。その後、細菌生産と原生動物の捕食速度に関するデータが蓄積し始めると、しばしば、細菌の生産に見合う捕食による消失がないことが明らかとなりました。そこで、別の消失要因として、ウイルスの関与が浮上してきたのです。

1989 年ノルウェーベルゲン大学のブラットバックらのグループが、超遠心機を使って海水中のウイルス粒子を濃縮し、電子顕微鏡で観察と計数を行い、海水 1cc 当たり細菌数の 10～100 倍のウイルスが存在することを発表したのです。その後、細菌と同じく蛍光顕微鏡を用いた簡便な計数法が考案され、様々な海域で広く計数が行われるようになり、その存在量から細菌の消失要因として重要な役割を果たしていると考えられるようになりました（図 2.1.3）。

ウイルスは、複製に必要な情報が書き込まれた遺伝子を宿主の遺伝子に組み込むことによって、その合成装置を操作し、新しいウイルスを作らせます。

ウイルスの感染には、基本的にリティック、リソジェニック、クロニックという三つのタイプがあり、それによって新しいウイルスのでき方が少しずつ違います（図 3.1.1）。

一つ目は、宿主細胞に感染した後、直ちに宿主の代謝系を用いて新たなウイルスを合成し、最終的に宿主の細胞膜や細胞壁を破壊して合成したウイルスを放出させるというものです。細菌を宿主とするこのようなタイプのウイルスを溶菌性ファージと呼びます。従って、溶菌性ファージによる感染は、海洋細菌の消失要因として生態学的に重要な意味を持っています。

二つ目の感染タイプでは、宿主細胞に感染した後、新たなウイルス合成は開始せず、宿主のゲノム DNA に自身の DNA を挿入します。これを溶原化と言います。溶原化したウイルス DNA は、宿主をすぐには殺すことなく、その増殖に伴ってその遺伝子のみが複製されます。しかし、一旦紫外線や抗生物質などによって宿主 DNA が障害を受けると、再び新たなウイルス合成を開始し、宿主細胞の破壊とウイルスの放出を行います。やはりこの場合も海洋細菌の消失要因となりますが、溶原化から溶菌サイクルへの移行実験の結果では、溶原性ファージによる細菌消失への寄与は少なく、数パーセントにすぎないと推定されています。

三つ目の感染タイプでは、宿主細胞内で新たに合成されたウイルスは、宿主細胞を破壊することなく、分泌あるいは出芽するようにして細胞外へ放出されます。今のところ、海洋において、このようなタイプのウイルス放出があるのか、全くわかりません。

海水中のウイルスは、細菌、藻類、原生生物といった海洋微生物に感染することによってその数をコントロールしているわけですが、さらにその多様性や進化にも深く関わっていると考えられています。新に合成されたウイルスが、他の細胞へ感染する際に、元の宿主遺伝子の一部を持ったまま感染し、次の宿主ゲノムに組み込んでしまうことがあるのです。こうして、ある微生物から別の微生物へ、遺伝子の水平伝達が起こります。こうした遺伝子の伝達が、実際の自然環境中でどの程度起こっているのかわかりませんが、微生物集団内で遺伝子が移動することによって、遺伝的形質の変化を促進し、長期的に微生物の進化に影響を与えていると考えられています。

2003年、極微小植物プランクトンの一種であるプロクロロコッカス(後の、第4節で詳述します)を宿主とするファージが、分離されました。このファージは、複数の異なるプロクロロコッカス株に感染性を示すと共に、近縁なシネコッカス株にも感染するため、広範囲な遺伝子の交換に寄与していると考えられます。つい最近完了したプロクロロコッカスとシネコッカスの全ゲノム解析の結果、そのゲノム内に、ファージが持つ遺伝子挿入酵素であるインテグレースの配列が見つかりました。このことは、ファージによる遺伝子の伝播が実際に起こっている可能性を示唆しています。

一般にウイルスと宿主の関係は非常に特異的で、一種類のウイルスは特定の種あるいは属の生物にしか感染しません。従って、ウイルス感染による遺伝子の移動も常識的には同一の種ないしは属の生物内に限られることとなります。ところが最近になって、ある種の海洋性ファージ粒子は、細菌の種属を超えた非常に広い宿主に感染することが分かってきました。もし、こうした感染の過程において遺伝子の伝達が起こっていると、ウイルスによる遺伝子の移動が、従来考えられている以上に、広範囲な微生物種間で行われていることとなります。

第2節 未知のバクテリア

1990年に、16S rRNA 遺伝子の解析から、SAR11 という新しい海洋細菌系統群の存在を示したジオバノーニの研究チームは、その後も海水中の細菌 DNA の解析を続け、10年間で600以上の16S rRNA 遺伝子の解読を行いました。その結果、解析した細菌クローンの8割が9つの系統群に分かれることが明らかとなりました(図3.2.1)。さらに、9つの細菌系統群のうち、既知の培養株を含む系統は、シネコッカスなどの光合成細菌とロゼオバクターを含む2つしかありませんでした。残りの7つの系統群は、これまで全く培養されたことのない細菌によって構成されていたのです。

培養できない細菌系統群の中で、最も普遍的かつ高頻度で出現するのが、最初に発見されたSAR11です。この細菌の16S rRNA 遺伝子は、沿岸の浅瀬から水深3000mの深海、さらには海底堆積物の中からも見つかることから、

海洋環境中で最も優先する細菌グループであると考えられています。また、プロテオロドプシンによるエネルギー生産を行う SAR86 も培養できない代表的な系統群の一つで、SAR11 とロゼオバクターグループに次いで出現頻度の高いグループです。

海洋に生息する多くの細菌系統群は、なぜ通常用いられる方法で培養できないのでしょうか？残念ながら明確な答えは未だ得られていません。しかしながら、一つの可能性として、海洋細菌の多くは、実際の生息環境に合わせて、非常に低い有機物濃度でのみ生育するように進化、適応しており、従って一般的な分離、培養に用いられる高い有機物濃度では生育できないという理由が挙げられています。

海洋細菌の分離、培養に用いられるゾベル 2216E 培地には、炭素量に換算して海水中の約千倍に相当する濃度の有機物が含まれています。実際に、高い有機物濃度では増殖せず、海水もしくは海水と同程度の低い有機物濃度でのみ増殖する低栄養細菌の存在が知られています。このような低栄養細菌を分離するためには、限界希釈法という方法を使います。試料とする海水を濾過除菌海水で段階希釈しながら、たくさんの培養容器に分注し、そのまま培養を始めるのです。数週間から数ヶ月すると、容器内には自然海水中にある有機物濃度で増殖できる低栄養細菌が少しずつ増えてきます。希釈によって、一細胞もしくはこれに近い数の細菌数からスタートした一部の培養容器から、特定の低栄養細菌の純粋培養を得ることができるのです。

限界希釈法によってこれまで培養できなかった系統群の培養株を得ることが長らく期待されてきましたが、2002年、ジオバノーニの研究チームによって、ようやく SAR11 系統群に属すると思われる細菌が分離されました。この培養株は、アンモニウム塩とリン酸塩を添加した海水中で、1~2日に一回程度のゆっくりとした分裂速度で増殖し、およそ一ヶ月かけて、海水 1cc 当たり $10^5 \sim 10^6$ の最大増殖数に達しました。さらに、海水にペプトンと呼ばれる栄養基質を添加すると全く増殖しないこともわかりました。ペプトンは、様々なタンパク質やその分解物を含む混合基質で、細菌の培養基質として最も広く利用されているものです。SAR11 系統群がこれまで分離、培養できなかったのは、培地に添加する基質が増殖を阻害していたことが一因だったのです。

(図 3.2.2)。

また、分離された菌の大きさは、これまで知られている自由生活型の細菌の中で最も小さなものでした。細胞サイズが極端に小さくなると、代謝系のバリエーションが限られてくる可能性があります。一方で表面積—体積比が増加するため、外部から物質を取り込む効率は良くなります。従って、SAR11 系統群の非常に小さな細胞は、海洋という比較的安定しているけれども全体的に栄養に乏しい環境に適応した結果であり、そのことが、この系統群の海洋における普遍的な分布を支える一つの要因になっているのでしょう。

細菌の場合も一般の生物と同じようにそれぞれの種類に応じた学名が付けられます。例えば、大腸菌であればエスキリッチア・コライ、コレラ菌であればビブリオ・コレラといった、れっきとした学名があります。新しい細菌に命名する場合は、その生化学的性状や 16S rRNA を含む遺伝学的な性状が他の細菌と異なることを調べ、さらに後から同様の細菌を見つけた人が比較実験できるように、分離した細菌を標準菌株として菌株保存機関に保存しなければなりません。つまり、ある細菌が新種として認められ学名が付けられるためには、分離・培養されたものである必要があるのです。従って、16S rRNA 遺伝子の配列から新しい系統の細菌が存在することがわかっているにもかかわらず、標準菌株となる培養株が得られて様々な性状が明らかになるまでは、“ SAR11 ” のような適当な記号番号で呼ばれることとなります。最初の論文発表から 12 年間、SAR11 は名無しのみでしたが、ようやく培養に成功したことで、新属新種として“ ペラジバクター・ユビーク ” という学名が提案されています。「海洋表層のどこにでもいる細菌」といった意味です。

第 3 節 遺伝子の宝庫

培養に依存しない解析方法によって明らかになった海洋細菌は、どのような性質を持った細菌なのでしょう？ また、実際の海洋環境でどのような働きをしているのでしょうか？

海水試料から抽出した DNA の 16S rDNA 解析によって、これまでに知られている細菌種との系統関係がわかりますから、最も近縁な細菌種の性質から

ある程度類推することは可能です。しかし、同じ種でも、病原性がある菌株とない菌株が存在するコレラ菌のように、大まかな性質は同じでも重要な性質に違いがあると、こうした類推もあまり役に立ちません。また、同じ系統に培養株が存在しない全く新しい系統の場合は類推することすらできません。つまり、16S rDNA を解析しただけでは、どのような細菌がいるかはわかって、その細菌がどんな機能を持っているかということまではわからないのです。当然機能がわからなければ、実際の環境中での働きもわかりません。海洋細菌の 16S rDNA の解析が始まり 10 年を経て、データの蓄積が進んでくると、必然的に研究者の関心は培養できない細菌系統群の機能解析に向いてきました。

2000 年、この問題に対する解決の糸口を与える研究を発表したのは、デロングの研究チームでした。その研究は、1980 年代初頭、ペースによって提案された当初のコンセプトを、ゲノム科学の発展によって生まれた技術を用いて実現したものでした。ペースの研究グループによって提案された当初のアイデアでは、環境中の微生物 DNA に由来するショットガンクローンライブラリから、16S rDNA をスクリーニングする方法が出されましたが、その後、PCR 法の登場により、16S rDNA を容易に増幅できるようになったことから、この方法論は普及しませんでした。しかし、PCR 法によって 16S rDNA だけを増やす方法では、それ以外の遺伝子情報が切り捨てられてしまい、細菌の種類は推定できても、その細菌がどんな働きをしているかという機能まではわかりません。

これに対し、クローンライブラリからスクリーニングする方法では、16S rDNA だけでなく、これにつながっている他の遺伝子もセットで取れるという大きな利点があります。遺伝子の塩基配列がわかれば、そこから機能を推定することができます。従って、16S rDNA の配列から細菌の種類を推定し、これとセットの遺伝子から、同時にその細菌がもつ機能を推定することができます。但し、クローニングされた 16S rDNA を含む DNA 断片がある程度大きなものでなければ、十分な機能解析はできません。

1970 年代に開発され、現在でも汎用されている一般的なクローニング法では、せいぜい 1 万塩基対程度の DNA 断片をクローニングするのがやっとです。

これでは、1500 塩基対の 16S rDNA に加えて、最大でも 8500 塩基対程度しか解析できません。細菌の全遺伝子情報は、100 万～200 万塩基対の大きさですから、その 100 分の 1 以下の遺伝子情報しか得られないこととなります。

そこで、デロングの研究チームは、1990 年代に新たに開発された方法を用いることによって、従来よりもはるかに大きな 10 万塩基対前後の DNA 断片をクローニングしました。そのクローンライブラリから、16S rDNA を含む断片を探し出し、その巨大断片の塩基配列を解読したのです。この方法を用いると、培養できない細菌でも、その全遺伝子の 1/10 程度の遺伝子情報を得ることができるのです（図 3.3.1）。

ある生物の全遺伝子（ゲノム）情報を含むクローンライブラリは、ゲノムライブラリーと呼ばれます。環境 DNA サンプルには、様々な微生物に由来する DNA 断片が含まれ、従って、そこから作成したクローンライブラリには複数の微生物ゲノム情報が含まれています。そこで、最近ではこのようなライブラリを、群集ゲノムライブラリあるいはメタゲノムライブラリ（“メタ”は、「超える」「より高い次元」を意味する接頭語）と呼ぶようになってきました。

デロングらは、米国西海岸モンレー湾の海水を大量にろ過し、そこに生息する海洋細菌を集め、その DNA サンプルから群集ゲノムライブラリを作成しました。このライブラリから見つかった断片のうちの一つは、16S rDNA の塩基配列から、ガンマプロテオバクテリアグループに属する細菌で、培養できない系統群の一つである SAR86 系統のものに由来することが分かりました。さらに、この断片の残りの部分の塩基配列を解読したところ、様々な遺伝子に混じって、バクテリオロドプシンというタンパク質をコードする遺伝子らしきものが見つかったのです。

ロドプシンは、ヒトや動物の網膜組織に含まれる光受容タンパク質です。ハロバクテリウムという好塩性の古細菌の一種では、これと構造や機能が似たタンパク質が光を利用したエネルギー合成を触媒することが知られており、バクテリオロドプシンと呼ばれています（図 3.3.2）。バクテリオロドプシンは、原核生物では古細菌のみが有するタンパク質であると考えられていましたが、デロングらの発見によって、細菌にもこのタンパク質を利用しているものがある可能性が出てきたのです。

しかし、遺伝子を見つけた段階では、バクテリオロドプシンに配列が似た遺伝子があるというだけであって、細胞内で発現して実際のタンパク質として働いていることを確認しなければ、バクテリオロドプシンとして機能している遺伝子とは言い切れません。そこで、デロングらは、群集ゲノムライブラリから発見した、バクテリオロドプシン遺伝子らしき配列部分を、大腸菌に組み込んで、人為的に発現させ、バクテリオロドプシン様のタンパク質が合成されることを証明したのです。さらに、大量の海水から集めた細菌細胞の中に、バクテリオロドプシン様のタンパク質が含まれることも示したのです。こうして、培養できない系統群の一つである SAR86 細菌が、海洋環境中で光を利用したエネルギー合成を行っていることがわかったのです。この新たに発見されたバクテリオロドプシン様のタンパク質は、プロテオロドプシンと名付けられました（図 3.3.3）。

一連の研究を通して、群集ゲノムライブラリによる解析が、培養できない細菌群を解析するための強力な手法となることが示されると同時に、これまで全く知られていない機能遺伝子の発見につながることを示されました。海洋環境中に生息する細菌のうち培養できるものは 1% 以下にすぎません。これは、“海洋”を“自然”に置き換えても同じです。私たちは、地球上に存在する原核生物が持つ可能性のごくごく一部しか知らないのです。近年のゲノム科学の急速な発展を背景に、可能となってきた群集ゲノム解析は、その宝箱を一気に開く鍵となるに違いありません。これまでのように、環境中から分離してきた細菌株（全体の 1% 以下）を対象にして、有用物質や機能の探索をするのではなく、環境試料から抽出した DNA から群集ゲノムライブラリを作成し、適当な発現系に組み込んで探索を行うことによって（全細菌を網羅し、はるかに多様な機能が期待できる）新しい発見の可能性を大きく広げることができるのです。すでに、こうした思想に基づいて新規物質を探索するバイオテクノロジー企業も出現し、ごく身近に存在しつつもこれまでアクセスできなかった遺伝子資源の開発が始まっています（図 3.3.4）。

第 4 節 ピコプランクトンの繁栄

蛍光顕微鏡や電子顕微鏡の発達は、海洋における植物プランクトンの認識にも重要な進歩をもたらしました。高倍率での観察技術の進歩によって、1マイクロメートル（1ミリの千分の一）前後の非常に小さな植物プランクトンが、予想以上に豊富に分布することがわかったのです。このような植物プランクトンは、極微小植物プランクトンあるいはピコ植物プランクトンと呼ばれています。シネココッカスと呼ばれるものが代表的な種類で、分類学上は、藍藻類に分類される単細胞性かつ原核性の藻類です。特に、熱帯や亜熱帯など暖かい海域の外洋域において優占し、時としてその海域の光合成生産量の90%以上に寄与していることが知られています（図3.4.1）。

また、1980年代後半になって、マサチューセッツ工科大学のチズムのグループは、当時、細胞生理学研究のために開発されつつあった分析機器を、船上に設置し、これを使って驚くべき発見をしました。熱帯や亜熱帯の外洋域で採取した海水を、フローサイトメーターと呼ばれるこの装置で直ちに分析し、未知のピコ植物プランクトンが大量に生息することを見つけたのです。このプランクトンは、シネココッカスと同じくらいのサイズでしたが、光合成色素の種類や、細胞内小器官の形態が、明らかに異なっていました。詳しく調べた結果、それまでホヤに共生する藻類として記載されていた、原核緑藻類の仲間であることがわかり、プロクロロコッカスと名付けられました。

フローサイトメーターは、レーザー光を照射して、蛍光を発する微小粒子の色や大きさを高速で分析する機械です。本来は、適当な蛍光色素で標識した動植物細胞の分析に用いられますが、光合成色素に由来する自家蛍光を発する植物プランクトンも、“蛍光を発する微小粒子”として分析できるのです（図3.4.2）。

チズムらの発見は、それまで特殊な共生藻類であると思われていたものが、海水中に1cc当たり、 $10^4 \sim 10^5$ という高い密度で、しかも普遍的に存在するという、にわかには信じ難いものでした。プロクロロコッカスは、酸素発生型の光合成を行う生物としては、地球上で最も小さく、もっとも多量に存在する生物です。小さいとはいえ、なぜ気がつかなかったのか？ 誰もがそう思ったに違いありません。細菌とほぼ同じ大きさで、光合成色素の自家蛍光も非常に弱いために、蛍光顕微鏡で観察しただけでは、細菌と区別することが

できなかったのです。その発見は、海の生物について、私たちが知らないことがまだまだあることを強く印象づけるものでした。

シネココッカスやプロクロコッカスといった微小サイズの植物プランクトンもまた、細菌と同様に原生動物の餌となるため、微生物ループの構成者ということになります。これらの植物プランクトンが、光合成生産者として大部分を占める海域では、自ずと微生物ループが主要な食物連鎖経路となることが予想されます。

プロクロコッカスやシネココッカスは、細菌と同じく原核性の微生物ですが、容易に培養できるうえに、実際の自然環境中でも多量に存在し、光合成による一次生産という生態学的な役割もはっきりしています。このような特徴から、海洋微生物の生理学的機能と生態学的役割の関係を調べるための非常に良いモデル微生物群です。2003年8月、米国やフランスの三つの研究グループによって、分離培養された株を用いて、プロクロコッカス3株（それぞれの株名は、MED4、MIT9313、SS120）シネココッカス1株（株名は、WH8102）の全ゲノム配列が決定されました。これらの研究成果は、次の節で述べるように、微生物ゲノムの研究が、その生物学や生理学に止まらず、微生物が生息する生態系や、微生物が関わる物質循環過程の解明にも、新たな進展をもたらす強力な手法となりうることを示しています。

第5節 ゲノムと環境への適応

ヒトゲノムプロジェクトやイネゲノムプロジェクトで、これらの生物の全DNAの塩基配列が明らかになったことは、ご存じの方が多いでしょう。微生物の世界においても多くのゲノムプロジェクトが推進され、2004年7月現在で、174種類の細菌、古細菌の全塩基配列が解読され、さらに506種類が解読中です。海洋で最も優占する細菌であるSAR11ペラジバクター・ユビークも、解読中の細菌の一つです。また、プロクロコッカスとシネココッカスは、海洋環境に広く分布し、生物量も多い微生物としては、初めて全塩基配列が明らかになった種類であると言えます。

プロクロコッカスのうち、MED4とSS120株のゲノムのサイズは、およそ

170 万塩基対で、酸素発生型の光合成生物としては既知の生物の中で最も小さなものです。これに対して、MIT9313 株とシネココッカス WH8102 株のゲノムは、1.4 倍の約 240 万塩基対です。同じ祖先生物から進化し、系統学的に近い関係にある微生物群で、しかも、生態学的な機能や形態がほぼ同じであるにもかかわらず、ゲノムの大きさがこれほどまでに違うのは、驚きです。保有する遺伝子に関して、MED4 株 1716 遺伝子のうち、MIT9313 株と共通なのは、1350 遺伝子に止まり、大きな違いがあります。この違いは、どうやらそれぞれの株が、深度や海域の違いによって棲み分け、それぞれの生息環境にうまく適応した結果を反映しているらしいのです (図 3.5.1)。

プロクロロコッカスには、従来から強光適応型と弱光適応型の 2 つのタイプの株があることが知られていました。強光適応型は、光合成に強い光を必要とし、海洋の表層付近に分布しています。弱光適応型は、強い光存在下では生育せず、より弱い光を好むため、海洋の一定水深以下、光の届くぎりぎりの深度に分布することが知られています。先に挙げた MED4 株は、強光適応型、SS120 と MIT9313 株は、弱光適応型です。プロクロロコッカスが分布する熱帯や亜熱帯の外洋域は、増殖に必要な栄養塩類に乏しい海域です。特に、強光適応型の MED4 株が生息する表層では、栄養塩は常に枯渇した状態にあります。

そこで、強い光を好む MED4 株は、最小限必要な遺伝子だけを残してゲノムサイズを小さくすることで、エネルギー消費量を減らし、より少ない資源を効率よく利用する最小化戦略によって、こうした厳しい環境に適応していると考えられます。ゲノムサイズを小さくして、機能を絞り込むことは、同時に、環境変化への適応に対する柔軟性を犠牲にすることでもあります。急激な環境変化にさらされると、必要とする別の機能を備えていない可能性が高くなり、生残が難しくなるでしょう。その点、熱帯や亜熱帯の外洋域では、暖かい海水が常に上層にあるために、上下の混合が起こりにくく、比較的安定した水塊構造が形成されています。強光適応型プロクロロコッカスの最小化戦略が成功した背景には、安定した表層の生息環境の存在があると言えます。

同様に、弱光適応型で最小化戦略をとる SS120 株もまた、下層の安定した

水塊に生息することによって、適応を果たしていると見ることができます。先に、熱帯や亜熱帯外洋域は、栄養塩に乏しい海域と言いましたが、それでも深層には十分な栄養塩が存在します。従って、光の届きにくい下層でも光合成が可能な弱光適応型のプロクロロコッカスは、表層よりも栄養塩を得やすい環境にあります。そこで、もう一つの弱光適応型である MIT9313 株は、最小化戦略をとらずに、多様な機能を残し、上層と下層の水塊の中間付近で環境変化に柔軟に応答しながら適応していると考えられています。

一方、シネココッカスは、プロクロロコッカスがあまり見られない沿岸域やその他の栄養塩の豊富な海域にも広く分布することが知られています。上述の WH8102 株の比較的大きなゲノムサイズは、変化に富む様々な環境の海域に適応するために、多様な機能を進化させた結果なのでしょう。

プロクロロコッカスやシネココッカスの棲み分けは、単にゲノムサイズだけでなく、保有する遺伝子の違いにも反映されています。大きなゲノムをもつシネココッカス WH8102 株は、窒素源として、アンモニア、亜硝酸、硝酸、尿素、シアン酸、アミノ酸、ペプチドを利用する遺伝子を持っています。同様に、プロクロロコッカス MIT9313 株は、硝酸とシアン酸を除くこれらの窒素源を利用する遺伝子をすべて保有しています。大きなゲノムをもつこれらの株は、様々な窒素源を幅広く利用できる機能を維持していることがわかります。

一方、小さなゲノムサイズの MED4 株は、アンモニア、尿素、シアン酸、ペプチド、SS120 株に至っては、アンモニアとアミノ酸を利用する遺伝子のみを保有しています。硝酸、亜硝酸は、海洋表層で枯渇しやすく、変動しやすい栄養塩であるため、最小化戦略において、みごとに除外されています。

さらに、これらの解析結果は、プロクロロコッカスやシネココッカスが、シアン酸を窒素源の一つとして利用している可能性を示唆しています。これまで、シアン酸の窒素源としての可能性など誰も検討していませんが、光合成や生態系の窒素循環を考える上で、検討を加えるべき新たな制御因子として検討の必要があります。

窒素代謝以外にも、同様に生態学的に重要な意味をもつと思われる、リンの代謝系や光合成系においても、これまで全く予想されていなかった機構の

存在が示唆されています。プロクロロコッカスやシネコッカスの全ゲノム解析の結果は、単に生物学、生化学上の新しい発見にとどまらず、これらの微生物の生態学的な役割の重要性を反映して、海洋の食物連鎖や物質循環、気候変動といった生態学的かつ地球化学的な研究に、強い影響を与えることになるでしょう。

第6節 多芸多才な海の原生生物

これまで話をしてきた細菌や古細菌は、原核性つまり核をもたない単細胞生物です。これに対して、真核性つまり核をもつ単細胞生物のことを「原生生物」と呼びます。従来、真核性単細胞生物のうち、葉緑体もち光合成を行うものは「藻類」、光合成を行わず、外部から有機物を摂取して生きるものは「原生動物」と区別して呼ばれてきました。しかし、系統学的には両者の間に、はっきりとした違いが存在するわけではなく、また、実際の生態系の中には、どちらとも言えない生態をもつ生物がたくさん存在することなどから、両者を厳密に区別する意味合いは少なくなってきました。まとめて「原生生物」と呼んだ方が、適当と考えられる証拠がたくさんあるのです。

捕食活動などによる有機物摂取と光合成の両方を行う生物は、混合栄養生物と呼ばれます。これには二つのタイプがあり、一つは、光合成を行う藻類でありながら、捕食活動を行うもの（混合栄養性の藻類）で、もう一つは、もともと葉緑体を持たない原生動物でありながら、藻類を捕食した後、その葉緑体を細胞内に保持し、光合成産物を利用するもの（混合栄養性の原生動物）です。

最近の研究では、海水中に生息する小型の藻類うち、半分以上は、混合栄養性の藻類であるとされています。こうした混合栄養性の藻類は、環境の変化に応じて光合成と捕食を使い分けられていると考えられています。

黄金色藻類の一種であるダイノブリオンは、光合成に必要な光や栄養塩が足りなくなると、捕食による栄養補給によって成長を補うことが知られています。別の黄金色藻類ボテリオクロモナスの場合は、餌となる細菌が十分にある環境では、光合成をやめて、専ら捕食によって栄養補給を行います。そ

して、餌が無くなってくると、再び光合成を開始します。ダイノブリオンは、光合成を主とし、ポテリオクロモナスは、捕食を主とする違いはありますが、いずれも二つのモードを切り替えることによって、どちらか一方のモードしかもたない生物に対して、環境中での生き残りを有利にしていると言えます。

混合栄養性の原生動物として、最も良く知られているのは繊毛虫です。多くの種類の繊毛虫で、捕食した藻類の葉緑体を保持、利用することが知られています。取り込まれた葉緑体は、およそ数日間細胞内に保持されますが、元になる餌を食べなくなるとしだいに減少して、最終的にはなくなってしまいます。

繊毛虫は、海洋環境中に最も多く存在する原生生物の一つで、微生物ループモデルの中では、捕食者として重要な役割を果たしていると考えられています。しかし、最近 10 年間の研究によってその半分以上が葉緑体を保持しているらしいことが分かってきており、同時に光合成生産者としての役割も無視できないようになってきました。

海洋に生息する繊毛虫の代表種であるメソディニウム・ラブラムも、混合栄養性で、他に比べ葉緑体の保持が非常に安定しているため、原生動物ではなく光合成生物であると考えられる研究者もいるくらいです。また、反対にこれまで光合成能を持つ藻類として認識されている微生物の中には、外部から取り込んだ葉緑体によって藻類と誤認されているケースもあると考えられています。

原生生物の世界では、いわゆる“動物”“植物”といった分け方が、用をなさないのはなぜでしょうか。理由は、その進化的な成立過程と深く関わっています。原生生物においても、細菌と同じく、遺伝子の塩基配列を相互に比較することによって、生物種間の系統関係、つまり進化的な成立過程を知ることができます。その結果、ある種の藻類と原生動物は、同じ祖先をもつ非常に近縁な生物であることが分かってきました。例えば、渦鞭毛藻は、進化的にみると、同様に光合成を行う珪藻類よりも、ゾウリムシ等の繊毛虫やマラリア原虫を含むアピコンプレクサに近い生物なのです。

光合成を行う器官である葉緑体の起源は、現在の藍藻類に近い酸素発生型の原核生物であり、現在の紅色光合成細菌と緑色硫黄細菌の祖先生物が、遺

伝子融合することによって誕生したと考えられています。従って、葉緑体には、その祖先生物に由来するゲノム DNA が含まれ、その 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を比較することによって、葉緑体の系統を知ることができます。その結果、現在の植物がもつ葉緑体は、単一の祖先生物を起源とすることを示す結果が得られています。

一方で、藻類の核に存在する 18S rRNA 遺伝子の塩基配列を比較すると、現在の藻類は、光合成生物として単一の祖先から進化してきたわけではなく、光合成生物になる前に複数の系統群に分かれ、それぞれの系統で独立に光合成能を獲得しながら、現在の形に進化してきたことが分かっています。

つまり、現在の藻類は、同じ起源をもつ葉緑体が、異なる祖先生物に共生することによって進化してきたと考えられているのです。また、藻類の葉緑体構造の詳しい比較解析から、葉緑体の獲得は、原核生物の一次的な細胞内共生によるだけでなく、すでに葉緑体を獲得した藻類が、別の藻類や原生動物の細胞内に共生（二次共生、三次共生）することによっても起こったと考えられています。このような共生現象は、現存の藻類にもしばしば見られ、実際に渦鞭毛藻類に共生する珪藻、珪藻やクリプト藻に共生する藍藻、繊毛虫に共生するクリプト藻などの存在が知られています（図 3.6.1）。

太古の昔の原生動物が、捕食や共生を通じて獲得した葉緑体が、やがてその生物の一器官として融合して、現在の藻類へと進化し、一方で葉緑体を獲得することなく進化してきたものが、現在の原生動物となっているのです。こうした進化の過程を考えると、藻類であるにもかかわらず、捕食を行ったり、原生動物であるにもかかわらず、葉緑体を利用するものが存在することは、ごく自然な現象として理解できます。どうやら、植物は光合成生産者、動物は捕食消費者という単純な図式は、私たちの勝手な思い込みであって、海洋の生態系にはまったく当てはまらないようです。光合成と捕食の両方を行う原生生物の普遍的な存在は、海洋の生態系構造に対するこれまでの考え方を大きく変える可能性を秘めています。

第4章 微生物の海中生活

第1節 印象派風の微生物ループ

海洋に存在する有機物量は、炭素量に換算しておよそ700ギガトン（1ギガトンは 10^{15} グラム）と見積もられています。これは、大気中に存在する二酸化炭素の全炭素量に匹敵するほどの莫大な量です。海洋に貯蔵されている莫大な量の有機炭素のうち、何割が二酸化炭素に変換されて大気中に戻るのか、何割が深海底に運ばれてそのまま貯蔵され続けるのか、あるいは、どれくらいの期間貯蔵されるのか？ こうした問題は、私たちが直面している地球規模での環境変動を把握する上で是非とも知りたい重要なものですが、残念ながら十分な答えを得るには至っていません。その答えを得るためには、海水中の有機物の性質、さらにはその消長を左右する海洋微生物との相互作用について、もっと良く知る必要があるのです。

最初の「微生物ループ」提唱から15年後の1998年、アザムは微生物ループを含む海洋の食物連鎖の概念図「微生物ループ：正統派バージョン」を発表しました（図1.6.1）。そこには、初期のモデルにはなかった有機物の沈降過程や、ウイルスとの関係が、組み込まれています。また、同じ論文には、もう一つ「微生物ループ：印象派バージョン」と称して、彼が「細菌の目で見えた海水中の微小環境」を想像した図が付されています（図4.1.1）。一見すると落書きのような絵ですが、そこには、海洋の微生物や有機物に関して最近の研究によって明らかになってきた、いくつかの新しい事実が、凝縮されています。

印象派バージョンには、微生物ループを構成する細菌、原生動物、植物プランクトン、ウイルスといった生物群の他に、“ホットスポット”と名付けられた有機物のかたまりや、不定形の複雑に絡み合う有機物粒子が描かれています。本来、細菌細胞内に直接取り込まれる有機物は、溶存態つまり海水中に溶けている形態のものです。海水中の有機物のほとんどは溶存態であることから、初期の微生物ループモデルでは、光合成や捕食食物連鎖の過程で生じた有機物が海水中に溶存拡散し、これを細菌群集が利用することによって微生物ループ過程が始まる、というシナリオが考えられていました。

ところが、その後の研究で、海水中には様々な大きさや形態をもつ有機物粒子が従来考えられていた以上に多く、しかも不均一に分布することがわかってきたことから、細菌群集の有機物利用に関するシナリオについても別の考え方が必要となってきました。

海水中に、均一に分布する溶存態の有機物を、受動的に取り込むという従来のシナリオに対して、海洋細菌は、不定形かつ不均一に分布する有機物粒子、あるいは有機物濃度の高い環境いわゆる“ホットスポット”を探しながら、これに積極的にアプローチすることによって、有機物を分解利用しているという新しいシナリオが、考えられるようになったのです。こうした新しいシナリオに基づいて、海水中の微小環境を描いたのが、「微生物ループ：印象派バージョン」というわけです。

従来の均一分布シナリオでは、有機物の量やこれを利用する細菌群集全体の活性が、微生物ループの変動を左右する大きな要因となります。一方で、不均一分布シナリオでは、様々なタイプのホットスポットの性質や、それに対する個々の細菌の挙動が、全体の量や活性に大きく影響してくることが予想されます。従って、地球規模での環境問題に深く関わる微生物ループ研究の最前線では、個々の細菌の環境中における動態を、顕微鏡レベルの非常に小さなスケールで解明する研究が行われています。海洋細菌は、不均一に分布する有機物を、どのように探して、利用しているのでしょうか？ 以下の節では、海水中の有機物の性質や、これを利用する海洋細菌の具体的な生活ぶりについて、詳しく見てゆきましょう。

第2節 海のマトリックス

「微生物ループ：印象派バージョン」では、微生物と共に不定形の有機物が、複雑に絡み合いながら分布する様子が描かれています。最近の研究では、海洋微生物と共に存在するこれらの有機物の一部は、ある種の高分子ゲルであるとする仮説が、提唱されています。高分子ゲルとは、高分子の有機物が、物理的ないしは化学的な相互作用で互いに結びつきながら、三次元的な網目構造をつくり、その内部に水などの溶媒を保持して膨らんだ状態のもので

固化した状態でありながら、多量の液体を内部に含むゲルは、実は私たちの身の回りにたくさんあります。寒天、ゼリー、プリンなどの食品や、ゼリー状プランクトンと呼ばれるクラゲの体も、1割のタンパク質と9割の水から成るゲルと言えます。そもそも、生物体を構成する“柔らかい”組織そのものが、ゲルと言えるようです。映画の中では、マトリックス（周囲を取り囲む媒体）は、コンピュータプログラムが作り出す仮想世界でしたが、海洋微生物にとってのマトリックスは、高分子の有機物と水で構成されるゲル状の物質というわけです。

現在、海水中の有機物は、アミノ酸やタンパク質といった分子サイズからマリンスノーのような巨視的サイズまで、連続的な大きさをもつ物質の集合体と考えられています。こうした有機物のうち、比較的大きなものは、食物連鎖の過程で生じる生物の死骸や糞粒からなっています。目に見えるほど大きなものは、海中に雪が降っているように見えることからマリンスノーと呼ばれます。従来の海洋学では、海水をガラス繊維製のフィルター（目合い約1000分の1ミリ、ガラス繊維を使うのは測定の際に有機物の混入を避けるためです）で濾過することによって、フィルター上に捕集される有機物を懸濁態有機物（粒子状の有機物）、フィルターを通過する有機物を溶存態有機物（水に溶けている状態の有機物）として扱ってきました。しかし、研究が進むにつれて、実際には海洋細菌の20~40%、ウイルスに至ってはほぼ100%がこのフィルターを通過することが明らかとなり、“溶存態有機物”といっても、本当に水に溶けている状態ではない有機物もたくさんあることが分かってきました。

1990年、東大海洋研究所の小池と木暮らによって、細菌やウイルスではない微小な有機物粒子（コロイド粒子、サブミクロン粒子などと呼ばれる）が多量に存在することが発見されました。

さらに1993年、カリフォルニア大学サンタバーバラ校で、マリンスノーの研究をしていたアルドリッジは、そのままでは目に見えないけれども、特殊な染色剤で染めると見える新しいタイプの粒子（トランスパレント・エクソポリマー粒子、通称テップ）が、海水中に大量にあることを発見しました。

こうして、海水中の有機物は、“粒子状のもの”と“水に溶けているもの”

という従来の単純な見方から、分子サイズから巨視的サイズまでの連続的な大きさをもつ多様な物質から成っている、という見方に変わってきたのです。

様々なサイズの有機物粒子は、どのようにして生成されるのでしょうか？これまで原生動物の捕食活動や、ウイルスによる細菌細胞の破壊、有機物どうしの凝集といった生成過程が示唆されていますが、ワシントン大学のベルデューゴらは、こうした粒子の生成過程や状態変化、物理的性質などを、高分子ゲルに適用されている理論によって説明するユニークな研究を発表しています。

彼らは、フィルターによって粒子を除いた海水を数日間置いておくと、溶存状態の有機物からナノメートル（1ミリの百万分の一）サイズの小さな粒子が自然発生的に形成され、時間の経過と共にマイクロメートル（1ミリの千分の一）サイズにまで大きくなることを見つけました（図4.2.1）。高分子ゲルは、構成する分子の網目構造の変化に応じて、全体の構造や体積が変化します。従って、外部の溶媒組成、イオン濃度、温度等の変化によって、膨らんだり縮んだりするのです。海水中の有機物から生成した粒子や、フィルターによって捕集された粒子もまた、イオン濃度の変化に応じて、膨らんだり縮んだりする高分子ゲル特有の性質を有していました。これらの実験結果は、コロイド、テップ、マリンスノーといった様々な大きさをもつ有機物粒子が、海水中に高分子ゲルとして存在し、環境変化に応じて膨らんだり縮んだり、ばらばらになったりと状態変化している可能性が高いことを示唆しています。例えば、ある環境の変化によってゲルが収縮すると、粒子の沈降速度が速くなる可能性がありますし、内部の有機物が、微生物による分解を受けにくくなります。こうした状態変化は、海洋における有機物全体の消長に大きな影響を与えることが予想されるため、海水中の“ゲルマトリックス”の性質や微生物との相互作用の解明が期待されています。

第3節 ミクロの世界のホットスポット

アザムは、海水中の有機物粒子あるいはゲルマトリックスのことを、微生物にとって栄養に富む好適な生息環境であり、高い活性を發揮している場所

という意味で、“ホットスポット”と呼んでいます。実際にマリンスノーを蛍光顕微鏡で観察すると、高密度にたくさんの微生物が付着している様子を見ることができます。アルドリッジの研究によると、マリンスノーには周辺の海水の千倍の密度で細菌が付着していることが報告されています(図 4.3.1)。つまり、スプーン一杯のマリンスノーには、一億から十億!もの細菌が付着しているのです。また、テップは、植物プランクトンが細胞外に分泌した多糖類によって形成されるゲル状の物質と考えられていますが、しばしば海水中の細菌の3~7割が、このような目に見えない有機物に付着した状態で分布していることが観察されています(図 4.3.2)。海洋微生物は、海水といういわば有機物のスープの中で生活しているわけですが、その中には微生物が好む様々な具(有機物粒子)が入っているというわけです。微生物は、具材を求めて集まりそこで活発に活動するため、その分布や活性は具材の種類や存在量、分布に大きく左右されることになります。

有機物粒子の存在によって、海水中の微生物の分布が大きく偏ることは、実験的に示されています。アザム研究室の大学院生であったロンは、1マイクロリットル(1ccの千分の一量)というごく微量の海水試料から、その中に存在する海洋細菌の16S rRNA遺伝子(「第2章第6節培養できない微生物への挑戦」を参照)を解析し、どんな種類の細菌が付着しているか調べる方法を考案しました。さらに、細いガラス管10本を2mm間隔で並べたサンプリング器具を作成し、実際の天然海水中におけるミクロスケールの海洋細菌の分布を調べました。それぞれのガラス管に入った海水中の細菌種組成を比較すると、わずかな距離にもかかわらずそこには明らかな違いが見られました。また、実験的に、有機物粒子として植物プランクトンの死骸を加え、繰り返し微量海水中の細菌種組成を調べると、一本の実験ボトル内でも種組成に大きなばらつきが出るようになりました。“ホットスポット”の存在によって、細菌の種組成がより多様になり、また特定の場所に偏在することによって、全体として不均一な分布パターンとなっていたと考えられます。

現在、私たちの研究チームでは、こうした“ホットスポット”における細菌の活動をミクロスケールで観察する研究を進めています。例えば、海水に、細菌の増殖速度測定に用いられるチミジン(「第4節微生物ループ」を参照)

に代えて、その類似物質であるプロモデオキシウリジン(BrdU)を加えると、活発に増殖している細菌は、DNA 合成の材料としてこれを同化します。従って、活発に増殖している細菌の DNA に BrdU という標識を付けることができ、この標識を特異的に結びつく抗体を使って検出することができます。蛍光色素を結合させた抗体（光る抗体）を海水中の細菌にふりかけ、蛍光顕微鏡で観察すると、BrdU で標識された細菌だけが光って見えるのです（図 4.3.3）。また、その光の強さは DNA 合成に利用された BrdU の量に比例しているため、どのくらいの速度で増殖しているかを推定することができます。

こうして、“ホットスポット”上で細菌が増殖する様子を詳しく観察することができるのです。また、BrdU 標識のついた細菌 DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子を解析することによって、どんな種類の細菌が活発に増殖しているのかを特定することもできます。さらに、FISH 法（「第 7 節微生物を釣る」を参照）を組み合わせることによって、顕微鏡下で、特定された細菌を見分けながら、それぞれの増殖の様子を詳細に把握する研究も進めています。

ホットスポットの研究では、海水中に自然な状態で浮遊している有機物粒子を調べるだけでなく、時には人為的にマリンスノーのような粒子を増やしたり、あるいは外から加えたりして、細菌群集の応答や変化を調べることも行われます。以下にその一例として、私たち広島大学と京都大学生態学研究センターの共同研究チームが、岩手県大槌町にある臨海実験施設（東大海洋研究所国際沿岸海洋研究センター）で行ったブルーム制御実験（「ブルーム」とは、植物プランクトンが急激に増殖した状態を指す海洋学用語）を紹介しましょう。

小型の調査船を使って、大槌湾から数百リットルの海水を採水します。これを屋外に設置した透明なプラスチックタンクに移した後、硝酸塩、リン酸塩、珪酸塩といった植物プランクトンの栄養になる塩類を添加します（図 4.3.4）。栄養がたっぷり入って、いわゆる富栄養状態になったタンク内では、植物プランクトンが急激に増殖を始め、2 日後には緑色に変わり、さらに 2 日たつと植物プランクトンの塊がタンクの底に沈殿しはじめます。実際の海では、このような塊が、マリンスノーと呼ばれる粒子となり、微生物の分解を受けながら海底に沈んでゆくことになります。植物プランクトン量の指標

となるクロロフィル色素量は海水 1 立方メートル当り、最高で 60mg まで達しました(図 4.3.5)。通常、10mg を超えると、いわゆる赤潮状態と呼ばれますから、タンク内では極端な赤潮が形成されていることとなります。

植物プランクトンの増殖に伴って、これに付着する細菌の割合が増加し、その活動も活発化してゆきます。タンク内での光合成量と呼吸量の推移を見ると、植物プランクトンの光合成のピークに呼応するように、細菌や原生動物による呼吸が急速に活発化していることがわかります(図 4.3.6)。タンク内の海水をとって、顕微鏡で観察すると、この赤潮の正体は連鎖状になった珪藻類であることがわかりました。さらに、良く観察すると、珪藻細胞の周りに細菌が付着している様子も見られました(図 4.3.2)。

実験開始から 1 週間後、タンク内の栄養の枯渇によって植物プランクトンが死滅し始めると、細菌や原生動物によって急速に分解が進みます。数日後にはきれいに分解されて、沈殿物は消えてしまいました。ブルーム形成に至る植物プランクトンの高い増殖能と同時に、分解過程における海洋微生物の高い活性を(文字通り、目に見える形で!) 如実に示している好例と言えるでしょう。

閉鎖されたタンクと異なり、実際の海洋環境では、微生物の分解作用の他に、沈降や移流あるいは動物プランクトンの捕食といった除去要因が働きますが、この実験では特に、微生物の分解に関わる過程を単純化してシミュレートしています。こうした実験によって微生物による有機物分解のしくみを詳しく調べることができるのです。例えば、タンク内の海水や有機物粒子から DNA を抽出して、上述したクローンライブラリ法(第 2 章第 6 節、図 2.6.2)で解析すると、珪藻細胞が分解される過程で、どのような細菌がこれに関わっているかを明らかにすることができます。また、BrdU 標識法や FISH 法を用いると、これらの細菌が珪藻細胞に付着して増殖する過程を顕微鏡下で観察し、その経時的な変化を追跡することができるのです(図 4.3.3)。

第 4 節 泳ぐ胃袋とマリンスノーのしっぽ

有機物粒子の存在によって、細菌の分布に偏りができることは、細菌がこ

うした粒子を検知してそこにたどり着くことができることを示唆しています。細菌には、化学物質に対する指向性いわゆる走化性があることが知られており、多くの海洋細菌が環境中でこの機能を発揮していると考えられています。これらの細菌は、一秒間に数百マイクロメートルの速さ（人間の大きさに拡大すると、時速数百キロメートルに相当する！）で泳ぎながら、化学的な濃度勾配を検知して栄養源に向かってゆきます。一見一様に見える海水中でも、実際には様々な有機物粒子の存在によって、有機物濃度が高い場所とそうでない場所が生じると考えられています。局所的に生じるこうした偏りは、水の動きや分子の拡散作用によって、いずれは周囲の環境と同じレベルにまで均一化されるか、別の場所に移動してしまいます。走化性をもつ細菌は、有機物に富む微小環境が消える前に、いち早くこれを感知することによって、走化性を持たない細菌に対して有利に増殖できると予想されます。ある沿岸海域において、運動性のある細菌の割合を一年間通して観察した研究によると、少ない時期で10%、多い時期では全細菌の60%が運動性を示すことや、有機物の添加によって運動性細菌の割合が増えることが報告されています。先の章で述べたように、生きている細菌の割合が全細菌の半分程度であることを考えれば、60%という割合は極めて高い値です。ある時期には、生きている細菌のほとんどが、運動性を持っていることとなります。代表的なモデル微生物である大腸菌では、この運動性と走化性は密接に関連していることがわかっています。その運動性は、鞭毛の回転方向によって制御されており、反時計回りに回転すると直進し、時計回りに回転するとその場で不規則に動き回ります。細菌は、有機物源から溶出するアミノ酸や糖といった分子を細胞膜表面の受容体によって感知し、一連の走化性タンパク質による細胞内のシグナル伝達を介して、鞭毛モーターの回転方向を制御するタンパク質に情報を伝えます。有機物が受容体に結合すると、鞭毛が反時計回りに回転し前進しますが、有機物濃度が減少し受容体への結合がなくなると、鞭毛は逆回転し前に進むことができなくなります。このようにして、前進と停滞を繰り返しながら、少しずつ有機物の溶出源に近づいてゆくのです（図4.4.1）。

海洋細菌についても、分離された菌の多くが鞭毛を持つことが分かっていますので、大腸菌と同じようなしくみで、海水中の有機物源を探索している

ことが予想されます。しかし一方で、分離培養した菌ではなく、実際に海水中に生息している細菌を直接調べると、鞭毛を持つものがほとんどいないという研究結果もあり、海洋細菌は何か別のしくみで運動性や走化性を発揮している可能性も指摘されています。

細菌は、環境中に存在する物質を直接細胞内に取り込むことによって、生育に必要な栄養源を吸収します。通常、細胞膜を通して吸収できる物質の大きさは、最大でも炭素原子が6個程度で構成される分子です。それよりも大きな分子は、菌体外に酵素を分泌して小さな分子に分解してから取り込みます。従って、海洋細菌でも、粒子状の有機物やそこから生じるタンパク質、糖、脂質といった高分子の有機物を菌体外酵素によって、より低分子の利用しやすい物質に分解してから利用すると考えられています。菌体外酵素には、タンパク質を分解するプロテアーゼやアミノペプチダーゼ、多糖を分解するグルコシダーゼ、脂質を分解するリパーゼ、核酸を分解するヌクレアーゼなどがあります。ちょうど私達が、口から入れた食べ物を胃や腸内に分泌される消化酵素で消化してから、栄養として吸収するのと同じです。アザムは、こうした海洋細菌の生態から、それらを“ The swimming stomach (泳ぐ胃袋)”と呼んでいます(図4.4.2)。

海水中を“泳ぐ胃袋”としての海洋細菌は、海洋生態系における物質循環に様々なかたちで影響を及ぼしていると予想されます。例えば、海洋表層から深層へと沈降する粒子状の有機物を、海洋細菌が分解、溶存化すると、その分だけ深層へ運ばれる有機物量は減少します。沈降有機物の減少は、生物ポンプ作用への影響を通して、大気から海洋への二酸化炭素の吸収量を減少させることとなります。次の章で詳しく説明しますが、「生物ポンプ」は、海洋における二酸化炭素の吸収・貯蔵システムであり、大気中の二酸化炭素濃度に大きな影響を及ぼすと考えられている海洋の生態系システムです。

また、海洋で測定される各種の菌体外酵素のうち、タンパク質を分解するプロテアーゼやリン酸基を切断するフォスファターゼは、多糖を分解するグルコシダーゼよりも格段に高い活性を示すことが知られています。このことは、タンパク質に豊富に含まれる窒素やリン酸基に由来するリンは、海洋表層で効率的に再生され光合成に利用されて、さらに多くの炭素の固定と沈降

に寄与していることを示唆しています。この場合は、海洋細菌の菌体外酵素の特性が、生物ポンプの効率を上げる方向に働いていることになるのです。

さらに、菌体外酵素の働きは、生きている植物プランクトンの動態にも影響を及ぼします。代表的な植物プランクトンである珪藻類は、大量に増殖すると細胞外に粘液物質を分泌することがあります。粘液物質による細胞の凝集によって、光の届かない水深まで沈降すると、珪藻の増殖は急速に終息することになります。この時、珪藻表面に付着する海洋細菌が、菌体外酵素によって粘液物質を分解すると、細胞の凝集と沈降を抑制することになり、同時に、窒素やリンの供給によって珪藻のさらなる増殖を促進することになります。結果的に、赤潮として知られている植物プランクトンの大増殖現象の消長をコントロールする要因ともなるのです。

海水中や粒子に付着した細菌の菌体外酵素活性を特別な方法で調べると、付着細菌の方が格段に高い活性を示すことがわかっています。ところが、付着細菌は、高い酵素活性によって盛んに高分子有機物の分解を行っているにもかかわらず、比較的ゆっくりとした増殖しか示しません。つまり、分解によって得られる低分子有機物のほとんどは、付着細菌の栄養として使われることなく、余剰分として海水中に放出されていると考えられるのです。

デンマーク水産研究所のキヨーボとテキサス A&M 大学のジャクソンは、粒子に付着する細菌によって分解、放出された有機物が、その粒子が沈降するにつれて、どのように拡散するかをモデル化しました(図 4.4.3)。粒子の沈降によって、その上方にちょうどしっぽが生えたような形で柱状の有機物の流れ(ブルーム)が生じるのです。このモデルでは、粒子に付着する細菌だけでなく、周辺の海水中に浮遊する細菌もまた有機物のブルームに入ることによって、その恩恵に浴することができます。こうして生じる有機物の豊富な微小環境いわゆる“ホットスポット”において、細菌が増殖しこれを捕食する原生動物が集まり、微生物ループが構成されるのです。また、細菌によって有機物が無機化されると、植物プランクトンの栄養源となる無機塩類も放出されるため、細菌の増殖だけでなく植物プランクトンの増殖も促進されると考えられます。特に、栄養塩類が不足しやすい外洋域においては、このような過程で生じる局所的な栄養供給が、多様な植物プランクトン種の増殖

や生残に深く関わっている可能性がある」とされています。

キヨーボ・ジャクソンモデルによる有機物のブルームは、浮遊性の細菌にとっては非常に良い栄養源となりますが、粒子に付着してせっせと有機物を分解、放出している付着細菌にとっては何のメリットもないように思えます。エネルギーと資源を費やして菌体外酵素を生産しながらも、その分解作用によって生じる有機物を自身ではほとんど利用しないのは、生き残り戦略としては不利です。さらには、沈降する粒子に付着して深層へと運ばれることによって、低温、高圧という深海の過酷な環境に急速に曝されることにもなります。

このような、一見矛盾した付着細菌の生態には、次のような説明が提示されています。マリンスノーに付着する細菌の増殖によって新たに生産された細胞が、粒子を離れて有機物のブルームの中に放出されていると考えれば良いというものです。付着細菌自身には直接メリットはなくとも、その子孫が恩恵を受けることによって、種としての生き残りには有利に働くというわけです。このことは、実験的に証明されたわけではありませんので、あくまで一つの仮説にすぎませんが、今のところ他に合理的な説明はなさそうです。

第5節 微生物のコミュニケーション

走化性の例に見られるように、細菌はある種の化学物質に反応してその活動を制御することができます。こうした分子には、シグナル分子あるいは自己誘導因子と呼ばれ、様々な遺伝子の発現を自己誘導するものがあることが知られています。ある細菌の細胞密度が高まり、細胞内外におけるシグナル分子の濃度が上昇すると、遺伝子のスイッチが入り、特定の機能が一斉に発現するのです。クオラム・センシングと呼ばれるこの現象は、海洋細菌の発光システムにおいて最初に発見され、ある種の海洋細菌に特有の機能であると考えられていました。しかし、90年代に入って、ヒトの病原細菌など全く関連のない様々なタイプの細菌から、同様のシグナル分子や自己誘導現象が発見され、現在では細菌細胞間のコミュニケーション機能として広く認知されています(図4.5.1)。

1960年代、海洋から分離されたビブリオ・フィッシャライという発光細菌が増殖する際に、ある一定以上の細胞数に達すると強く発光を始めることが知られていました。当初は、この現象について、培地に含まれるある種の化学物質によって発光が抑制され、細菌の増殖と共に阻害物質が代謝、除去されるため、発光が遅れて開始すると説明されました。その後、1970年代に入って、培地成分による抑制ではなく、細菌自身が作るある種の化学物質の促進作用によって発光が開始されることがわかってきました。この現象は、細菌同士がお互いにコミュニケーションしつつ、集団が一定数に達したところで、一斉に活動を始めることから、クオラム・センシング（直訳すると「定足数感知」）と名付けられました。クオラム（Quorum）とは、法律用語で「定足数」を表す言葉です。

1981年、ビブリオ・フィッシャライのクオラム・センシング分子としてホモセリン・ラクトン（正確には *N*-acyl-L-homoserine lactone）という化学物質が分離、同定されました。さらに、1990年代に入ると、病原細菌の一種である緑膿菌（シュードモナス・エルギノーサ）が、発光細菌と同じクオラム・センシング機構によって、いくつかの病原因子の発現を制御していることが明らかとなりました。これまでに、30種類近くの細菌からホモセリン・ラクトンによるクオラム・センシング機構が見つかり、発光や病原性因子の他にも、菌体外酵素や菌体外多糖の産生、抗生物質の産生、運動性等の発現を制御していることが報告されています。また、ホモセリン・ラクトンとは異なるシグナル分子も見つかり、クオラム・センシングは細菌界に広く見られる機構であると考えられています。

クオラム・センシングは、細菌の自然界における生存にとってどのような意味をもっているのでしょうか？ 19世紀のフィッシャーの時代からその存在が認識されていた海洋の発光細菌を例に考えてみましょう。ビブリオ・フィッシャライを実験室で培養すると発光しますが、海水中でこうした発光能が役に立つ場面があるとは思えません。実は、この発光細菌は、海水中に生息すると同時に、ある種の魚やイカの発光器官にも共生しているのです。これらの生物の幼生期に、周辺の海水中から発光器官に取り込まれ、器官内において1cc当たり100億細胞という超高密度に増殖します。ビブリオ・フ

フィッシャライは、栄養の少ない海水中では発光によるエネルギーの浪費を回避し、栄養豊富な発光器官に移行してはじめてその機能を発現しつつ宿主生物との共生関係を成立させているのです。発光細菌にとって、海水中でより長く生存し、次の宿主を見つけるために無駄なエネルギーを消費しないことは重要な意味を持っていると考えられます。クオラム・センシングは、栄養豊富な共生環境に移行したことを感知し発光しても良いタイミングをはかるためのシステムと言えます。

海洋細菌にとってのクオラム・センシングの意味について、もう少し想像を逞しくして考えてみましょう。ビブリオ・フィッシャライにとっておいしい環境である発光器官を、海水中に偏在する有機物の塊である“ホットスポット”に置き換えて考えてみたらどうでしょうか。クオラム・センシングによって発現する機能は、発光だけでなく菌体外酵素や抗生物質の産生が知られています。走化性、運動性を発揮しつつホットスポットにたどり着いた細菌は、豊富な栄養源を利用して増殖します。そして、ある一定密度以上になって様々な機能を発揮できると、周囲の環境への適応能を高めてゆくことができます。例えば、菌体外酵素の生産によって、高分子有機物の利用能を高める、あるいは抗生物質によって競合する他の細菌の増殖を阻害するといったシナリオが考えられます。こうした機能は、有機物濃度が低く、他の細菌と競合する可能性も低い海水中の浮遊環境においては、ほとんど必要ないと思われるかもしれません。海水中では無駄なエネルギーの消費を避け、ホットスポット上で持てる機能を発揮するには、クオラム・センシングに見られるような発現制御機構は、とても良いシステムです。

キヨーボとドイツの研究グループは、実際にマリンスノーに付着する細菌について、ホモセリン・ラクトン産生能をもつかどうかを調べ、ロゼオバクターやマリノバクターという海洋環境でごく一般的に見られる種類の細菌が、産生能をもっていたことを報告しています。海洋細菌は、その生息環境に適応して生き残る過程において、クオラム・センシングのような形質を獲得してきたのかもしれませんが。

第5章 海の微生物と地球環境

第1節 生物ポンプ

植物プランクトンが光合成を行うと、海水中から二酸化炭素が除かれ、新しい細胞の合成という形で、その分に相当する有機物に変換されます。生産された有機物は、食物連鎖を経て他の海洋生物に利用され、最終的には再び二酸化炭素に分解されます。生物によって、光エネルギーを利用し二酸化炭素から有機物が合成される過程を「光合成」、有機物が二酸化炭素と水に分解される過程を「呼吸」と呼ぶわけですが、光合成によって二酸化炭素が吸収されても呼吸によって同じ量の二酸化炭素が発生すると、正味の吸収はゼロとなります。植物による光合成が、二酸化炭素の吸収に寄与するためには、いったん合成した有機物を何らかの形で貯蔵しておく必要があるのです。その点、陸上植物特に樹木は、数十年あるいは数百年の間生長を続ける限りにおいて、植物体として二酸化炭素を貯蔵していることとなります。一方、日単位の短い生活史をもつ海洋の植物プランクトンは、すぐに他の生物に利用、分解されてしまうため、それ自身が二酸化炭素の貯蔵源となることはありません。

海洋では、陸上生態系における樹木の代わりに、「生物ポンプ」と呼ばれる二酸化炭素の吸収・貯蔵システムが働いています。陸上植物は、重力に抗して生物体を保持するために、セルロースを使った堅い細胞構造を発達させましたが、水中に生活する植物プランクトンは、そうした堅い構造をもつ必要がありません。植物プランクトンは、細胞の構成成分において重量の30~50%がタンパク質で占められ、これを捕食する動物にとっては非常に利用しやすい組成になっているのです。従って、海洋表層における光合成によって生産された有機物のほとんどは、表層で他の生物に利用、分解されます。

しかし、そのうちの一部、食物連鎖の過程で生じる生物の死骸や糞粒、さらに、これに付着する微生物が、平均水深3000mの海底へと沈んでゆきます。こうした有機物も、最終的には生物分解を受けて、二酸化炭素になりますが、百年から千年単位の循環によって深層水が再び表層に上がってくるまでは、深海に貯蔵されることとなります。こうして、有機物が沈降した分だけ、光

合成による正味の二酸化炭素吸収がプラスとなり、表層水中から二酸化炭素が除かれ、その減少分を補うために大気中から海洋へ二酸化炭素が溶け込むのです。海洋の光合成とそれに続く食物連鎖が、二酸化炭素を大気中から除き、海洋深層に運ぶポンプの役割を果たしているのです。

第2節 鉄仮説

海洋には、植物プランクトンの栄養となる硝酸塩やリン酸塩（栄養塩）が豊富に存在するにもかかわらず、その増殖が抑えられており、非常に少ない生物量しか観測されない海域が存在します。こうした海域は、高栄養塩低クロロフィル海域と呼ばれ、太平洋の赤道域、北東太平洋、南極周辺海域がそのような場所として知られています(図5.2.1)。一般に、炭素、窒素、リン、硫黄などといった生物体を構成する元素は、生元素と呼ばれ、生物は、環境中に存在するこれらの生元素を様々な形で体内に取り込み、自身の体を合成する材料として利用します。植物プランクトンは、炭素源として二酸化炭素を、窒素源として硝酸塩やアンモニウム塩を、リン源としてリン酸塩を、硫黄源として硫酸塩を吸収して生長します。このうち、二酸化炭素と硫酸塩は海水中に多く溶け込んでおり、ほとんど不足することはありませんが、硝酸塩やリン酸塩の供給量は、海域や時節によって大きく変動します。これらの栄養塩が陸域から供給される沿岸域では、植物プランクトンが活発に増殖し、生産性の高い生物の豊富な生態系が形成されます。また、硝酸塩は深海にも豊富に存在し、深海の水が表層付近まで上昇してくる湧昇海域では、同様に高い生産性が見られます。したがって、栄養塩の豊富な海域では植物プランクトン量の指標となるクロロフィル量も多くなるのが、海洋で広く見られる一般的な傾向です。また、多くの外洋域では、陸からの栄養塩の供給量が減少するため、わずかな栄養塩は植物プランクトンにすぐに消費され、常に枯渇した状態にあります。ところが、上記の高栄養塩低クロロフィル海域では、こうした一般則から外れてしまっているのです。

何が原因で植物プランクトン量が低く抑えられているのか。光の不足や動物プランクトンによる捕食など、様々な仮説が提唱されました。その一つと

して浮上してきたのが、鉄の不足による増殖制限です。

鉄が、植物プランクトンの増殖を制限する要因となりうることは、1930年代から指摘されていました。今日の酸化的環境では、鉄は水に溶けない化学形態に変化しやすく、すぐに沈殿してしまうため、植物プランクトンが利用できる量は、わずかしかないと考えられたのです。しかし、当時は、実際に海水中の鉄を測定してみると、増殖を制限するほど低い値は得られませんでした。後に、これらの値は、いずれも採水や測定の過程において混入した鉄を測定していたことが判明し、本当の値は千分の一程度であることが示されることとなります。

植物プランクトンの増殖に鉄が必要だというのは、ちょっと意外に聞こえるかもしれませんが、鉄は生物にとって欠かせない元素の一つです。例えば、人の血液中で、酸素を運搬するヘモグロビンは、鉄を含むタンパク質です。鉄が不足すると、貧血になったり体調が悪くなることは、誰しも経験的に知っています。植物においても、光合成系における重要な電子伝達物質であるシトクロムやフェレドキシンは、鉄を含む化合物です。さらに、ヘモグロビンと同じ鉄結合タンパク質であるシトクロムに至っては、ミトコンドリアにおける電子伝達とエネルギー生産にも関与し、動物、植物、カビ、細菌といったあらゆる生物に含まれています。鉄が不足するとこうした重要な生体物質の生合成に支障をきたし、結果的に増殖が抑制されると考えられます。

鉄の供給は、ある種の細菌や藍藻類による窒素固定にも影響を与えます。窒素固定は、大気中に豊富に存在する分子状の窒素を、別の窒素化合物に変換する反応です。農業用に使用される窒素肥料は、工業的に窒素分子と水素分子を高温高圧下で反応させて、アンモニアを合成することによって生産されています。一方、生物体内における窒素固定は、常温常圧下で、ニトロゲナーゼと呼ばれる鉄と硫黄分子を含む酵素の働きによって行われます。

ある種の土壌細菌や、大豆などのマメ科植物の根に共生する根粒菌による窒素固定は良く知られていますが、海洋においても細菌や藍藻類による窒素固定が行われ、特に栄養塩の枯渇しやすい外洋域における窒素供給源として、生態系の中で重要な役割を果たしています。従って、海洋における鉄の不足は、ニトロゲナーゼによる窒素固定系を抑制し、生態系への窒素の供給を制

限することにつながると考えられるのです。

鉄の他にも、銅、亜鉛、マンガンといった金属元素は、植物の生長に欠かせない必須元素です。こうした元素は、生体内の酵素の活性中心として利用されるなどして、ごく微量ながら必須の元素となっています。これらを含む化合物は微量栄養塩と呼ばれ、その他にホウ素、塩素があります。これに対して、炭素、窒素、リン、硫黄といった生元素は、植物にとって比較的多量に必要とする元素で、カリウム、カルシウム、マグネシウム塩類と共に、多量栄養塩と呼ばれています。また、植物プランクトンの中で、珪藻類は珪酸質の殻を合成するために、多量の珪素もその増殖のために必要とします。

これらの栄養元素のうち、海水成分として比較的豊富に存在するカリウム、カルシウム、マグネシウム、ホウ素、塩素、硫黄、炭素といった元素は、植物プランクトンの増殖を制限する要因になることはほとんどありません。これに対して、その他の微量あるいは多量栄養元素の海水中における分布や消長は、海洋において植物プランクトンの増殖を制限し、ひいては生態系全体の生産性を左右する要因となる可能性が高いといえるでしょう。特に窒素、リン、珪素、鉄といった元素は、実際に植物プランクトンの増殖を制限していることが分かっている代表的な栄養元素と言えます。

1980年代の中頃、カリフォルニアにあるモスランディング海洋研究施設のマーチンらは、非常に高感度な測定技術を駆使して、高栄養塩低クロロフィル海域における鉄の濃度が非常に低く、植物プランクトンの増殖には不十分であることを初めて明らかにしました。彼らは、サンプリングや測定の過程から、鉄製のものを徹底的に排除し、すべてプラスチック製もしくはプラスチック素材でコーティングされた器具に替えることによって、実験系への鉄の混入を防ぎ、極微量の鉄の測定に成功したのです。

海水中の鉄濃度は、それまで考えられていた濃度の千分の一しかなかったのです。また、同時に外洋域における鉄の供給源と考えられる大気ダスト(黄砂のように風によって運ばれる土壌粒子)の量が、これらの海域では非常に少ないことを明らかにしました。こうして、植物プランクトンの増殖が制限されているのは、鉄の不足が原因だとする説を支持する具体的なデータが示されたのです。

マーチンらはさらに、高栄養塩低クロロフィル海域でサンプリングした海水をボトルに入れ、鉄を加えると、植物プランクトンの増殖が促進されることを実験的に示しました(図 5.2.2)。高栄養塩低クロロフィル海域の一つであるアラスカ沖で採取した海水に鉄を加え、鉄を加えない場合と植物プランクトンの増殖を比較したのです。その結果、鉄を添加した場合は、最大で 10 倍もの増殖量を示したのです。これらの結果から、外洋域への鉄の供給が植物プランクトンによる基礎生産量をコントロールし、生物ポンプへの影響を通じて二酸化炭素濃度の変動をコントロールしているとする仮説いわゆる「マーチンの鉄仮説」が提唱されたのです。

第 3 節 海に鉄を撒く

マーチンらの実験結果は、鉄仮説の証明として、容易には受け入れられませんでした。第一の理由は、ボトル実験には植物プランクトンを捕食する動物プランクトンが入っていないので、実際の生態系の応答を反映していないというものです。新たな構成要素の有無で、結果的に実験室と自然環境では全く異なった生態系の応答が引き起こされることは十分に考えられます。第二の理由は、船上での実験において、予期しない鉄の混入を防ぐことが非常に困難であることです。採水に用いるワイヤを始め、船体そのものが鉄できています。ごく微量な鉄の混入が、植物プランクトンの増殖の促進につながるため、鉄を加えていないはずのボトルにも増殖促進が認められたなどということがありうるのです。

様々な実験的証拠は、鉄仮説を支持していると考えられましたが、これをさらに補強し、ボトル実験に対する批判にも答える必要がありました。そこで、マーチンは、実際の海に広範囲に鉄を散布して、植物プランクトンや生態系の応答を観測する計画をスタートさせたのです。高栄養塩低クロロフィル海域の中でも、過去の気候変動との関わりから南極海が重要な海域でしたが、大規模な生態系実験を行うには物資や費用の面あるいは天候の不安定さといった困難を伴います。そこで、最初の実験海域となったのは、ガラパゴス諸島に近い、太平洋赤道域でした。

1993年、マーチンの同僚の研究者らによって、世界最初の鉄散布実験が太平洋赤道域で行われました。残念ながら、マーチンは実験の数ヶ月前に病で亡くなってしまい、その成功を目にすることはありませんでした。

実験では、塩酸で酸性にした15トンの海水に鉄を溶かし、一日かけて60km²にわたって散布しました。その結果、ボトル実験で見られたのと同様に、鉄を散布した場所では、すぐに植物プランクトンの増殖が促進されたのです。しかし、実験開始から4日後に、散布した海域の水塊構造が変化したため、9日間行われた観測における最終的な植物プランクトンの増殖量は、予想を下回る結果となりました。

1995年、同じグループによって再び散布実験が行われました。最初の実験によって確認できなかった、動物プランクトンの捕食の影響や、鉄以外に植物プランクトンの増殖の制限要因となりうる他の微量金属のモニタリングなどが、新たな観測項目として加えられました。また、観測中の鉄濃度の低下を補うために、複数回の鉄散布を行い、より長期の17日間の観測が行われました。2回目の実験は大きな成果を収め、鉄の散布が劇的な効果をもたらすことが確かめられました。鉄が散布された海域では、窒素やリンなどの余剰な栄養塩が大幅に消費され、植物プランクトンの光合成活性、増殖速度や生物量が急激に増加しました。その結果、鉄散布海域の水中の二酸化炭素分圧(水中に溶けている二酸化炭素量を表す指標)は、大気との平衡状態の分圧の60%にまで減少したのです。

その後、南極周辺海域においても、同様の散布実験がニュージーランド、ドイツ、米国の研究グループによってそれぞれ行われました。いずれの実験でも、植物プランクトンの生産量と生物量が、数日から数週間にわたって増加することが確かめられ、ある実験では20~30倍もの生物量の増加を観測しました。

残る高栄養塩低クロロフィル海域であった北太平洋においては、日本の研究グループによって散布実験が実施され、やはり植物プランクトンに対する増殖促進効果と栄養塩や二酸化炭素濃度の減少が確認されました。

こうして、過去10年間に行われた一連の鉄散布実験によって、鉄仮説の半分、つまり「鉄の不足によって、植物プランクトンの増殖が制限されており、

これを添加することによってその増殖を促進することができる」のは、間違いないことがわかりました。しかしながら、いずれの実験においても深層への沈降物質量の劇的な増加を示すデータは得られず、仮説の後半部分「鉄の添加が生物ポンプ作用の促進につながる」という確証は得られませんでした。マーチンが提案したように、鉄の散布が二酸化炭素増加の抑制につながるかどうかは、依然として検証されるべき仮説として残っています。

第4節 鉄が気候を変える

鉄は、地殻中で6番目に多く含まれる元素であり、陸上の土壌中にはたくさん存在していますので、主に河川を通じて、陸上から海洋へ鉄が供給されます。しかし、水に良く溶ける2価の鉄イオンは、大気中の酸素と反応してすみやかに水に非常に溶けにくい3価の鉄イオンへと酸化されるため、河川から海洋へと供給された可溶性の鉄の多くは、不溶性の沈殿となり、沿岸域ですみやかに除かれることとなります。酸素に富む環境で生活する海洋の植物プランクトンにとって、鉄は非常に利用しにくい元素なのです。

従って、外洋における主な鉄の供給源は、黄砂のように風によって運ばれる土壌粒子（大気ダスト）であると考えられています。マーチンは、高栄養塩低クロロフィル海域は、こうした大気ダストの供給源から離れているために、鉄の供給量が少なく、その結果植物プランクトンの増殖が制限されていると主張したのです。実際に、こうした海域で採取した海水に鉄を加えると、植物プランクトンの活発な増殖と余剰栄養塩の消費が見られることは、鉄仮説の妥当性を証明するものでした。

地球上で人間活動の影響が最も少ない南極は、地球規模での環境の変化を計測するのにとても良い場所であることから、現在の地球環境のバロメーターであると言われます。同時に、南極大陸を覆っている氷（氷床）は、過去の地球環境を知る手がかりを与えてくれるタイムカプセルでもあります。南極氷床は、過去から現在までその成長に伴って、大気中から降下してくる様々な物質や大気自身を氷の中に閉じこめています。従って、氷床を数キロメートルにわたって掘削した氷の柱（氷床コア）を調べることによって、過去数十

万年間の大気の様子を知ることができます。

マーチンは、南極ヴォストーク基地で掘り出された氷床コアの過去 18 万年間データから、氷期には間氷期に比べて鉄の量が多く、同時に二酸化炭素濃度が低いことを示し、南極海への鉄の供給が過去の環境変動にも関わっていたとする説を提示しました。

つまり、氷期において地球上の水分が凍結して降雨量が減少すると、陸地の乾燥によって大気中に大量のダストが飛散し、鉄を含む大気ダストの海洋への降下量が増大します。もし、鉄仮説が正しいとすると、鉄の供給量の増加によって、植物プランクトンの増殖や窒素固定が促進されるはずですが、植物プランクトンの生産量が増加すると、動物プランクトンによる捕食活動も盛んになり、深層への沈降有機物量が増加し、生物ポンプ作用が促進されることが予想されます。その結果、大気から海洋への二酸化炭素吸収量が増大し、大気中の二酸化炭素濃度が下がったと説明できるのです。

また、暖かい間氷期には、鉄供給量の減少に伴う植物プランクトンの増殖抑制によって、生物ポンプ作用による大気から海洋への二酸化炭素の吸収量が減少してしまったと考えられます。こうして、マーチンは、海洋への鉄の供給とそれに伴う植物プランクトンの増減、さらに生物ポンプ作用の促進や抑制が、万年単位での地球規模の環境変動に大きく影響していたと考えたのです。

ヴォストーク基地における氷床コアの掘削は、1980 年旧ソ連邦によって開始されました。マーチンが利用したデータの後も、ロシアーフランスーアメリカのプロジェクトとして掘削は続けられ、その掘削深度は 1992 年には 2500m、1998 年には 3623m まで到達しました。こうして得られたヴォストーク氷床の分析結果から、1999 年には現在から遡ること 42 万年間について、二酸化炭素やメタンガス濃度、気温、大気ダスト量などが明らかにされたのです。

地球は、過去 42 万年の間に、4 回の氷期—間氷期サイクルを繰り返していますが、いずれのサイクルにおいても、マーチンが指摘したように、二酸化炭素濃度と大気ダスト量の間には負の相関がみられました。その結果では、氷期と間氷期における二酸化炭素濃度の変動幅は、およそ 80ppm であったと

見積もられています。

2000年、イギリスのワトソンらは、鉄の供給による基礎生産量の変動が、二酸化炭素濃度の変動にどの程度影響を及ぼすかを、数値モデルによって計算しています。ヴォストーク氷床で得られた過去42万年間の大気ダスト量の変動を、鉄供給量の変動パターンとして、そこからモデルを介して導かれる二酸化炭素濃度の変動パターンを計算したのです。その結果、モデルによって再現された変動パターンは、4回の氷期—間氷期サイクルにおける二酸化炭素濃度の変動パターン（低下と上昇のタイミング）と良く一致していました（図5.4.1）。この結果から、過去の環境変動に、鉄の供給による植物プランクトンの応答が関与していたはずだと結論づけられています。しかし、実際の氷期から間氷期にかけての二酸化炭素濃度の上昇が80ppmであったのに対して、ワトソンらのモデルによって計算された上昇幅は40ppmに止まりました。従って、過去の氷期から間氷期にかけての二酸化炭素濃度の変動には、鉄の供給による基礎生産量の変動と同時に、別の変動要因も関与していたはずだと指摘されています。

第5節 海の植林活動

1988年、マーチンは高栄養塩低クロロフィル海域で行った鉄濃度の測定やボトル実験の結果を元に、鉄によってこれらの海域の植物プランクトンの増殖が抑制されていること、過去の氷期—間氷期における環境変動に、鉄の供給に対する植物プランクトンの応答が関与していたとする説を世界的に有名な科学雑誌「ネイチャー」に発表しました。発表後、マーチンの鉄仮説は、その真偽を巡って科学者たちの中で論争を引き起こすと同時に、自らがテレビ番組に出演するなど、新たな温暖化対策としてマスコミにも大きく取り上げられたのです。論文発表の前年、米国のウッズホール海洋研究所で講演したマーチンは、30万トンの鉄を南極海に散布することによって、20億トンの二酸化炭素（化石燃料消費による年間排出量の約3分の1）を大気中から除去できる可能性があるとし唆しました。この時彼は、冗談半分に“ Give me a tanker-load of iron, and I'll give you an ice age.（タンカー一杯の鉄

をくれたら、氷河期にしてあげるよ)" と言ったと伝えられています。

こうして、1980年代の終わり頃から、鉄を散布(肥料を撒くという意味で、しばしば Fertilization「施肥」という言葉が使われます)することによって、大気中の二酸化炭素の増加を抑制する技術の可能性が、真剣に検討されるようになったのです。このような温暖化対策は、市販のサプリメントの商品名に掛けて、“Geritol Solution(ジェリトール解決策)”と呼ばれました。地球にサプリメントを与えて活性化し、調子を整えるというわけです。

科学的な確証がないまま、「海にわずかな鉄を散布することによって、二酸化炭素を吸収できる」という考えは、非常に魅力的な温暖化対策として一部の企業家に受け止められました。ある会社は、南極周辺海域を航行する船舶に、定期的に少量の施肥をさせる方法を提案しています。また、別のグループは、鉄やアンモニアを含む栄養塩を、パイプラインを通じて沿岸海域に直接流し込み、植物プランクトンの増殖を促進する方法を検討しています。また、アメリカの起業家の中には、商業的な海洋施肥技術として、いくつかの特許を取得する者まで現れたのです。

こうした動きの背景には、現在施行されつつある炭素排出権取引市場において、海洋施肥が有力な商品になりうるという計算があります。直接的な温暖化抑制効果の有無にかかわらず、何らかの形で海洋施肥が二酸化炭素の吸収源として認められれば、排出権としての売買利益を得ることができるのです。カリフォルニアに設立されたある財団では、すでに「ブルー・グリーン・タグ」と称して、海洋施肥権利の販売を始めています。この権利(タグ)を一つ4ドルで購入すると、財団が行う海洋施肥を通じて1トンの二酸化炭素吸収を保証するというシステムです。一般家庭において、車を一年間使用することによって(走行距離1万5千キロとして計算)排出される5トンの二酸化炭素を、20ドル分のタグを購入することによって相殺できるとしています。さらに、将来排出権取引市場において、海洋施肥による吸収効果が認められれば、購入したタグは転売利益を生む可能性もあり、一種の投資であるというわけです。二酸化炭素1トンにつき4ドルという価格は、8ドルと見積もられている予想市場価格の半分しかなく、大きな見返りが期待できます。もし、吸収効果が認められず排出権としての価値がなくなっても、財団が行

う海洋研究への寄付として、税金の控除が受けられるという、抜け目ないシステムになっています。

植物プランクトンを増やすことによって海洋を緑化し、二酸化炭素の吸収量を増やすというやり方は、一見すると海の植林活動とも言えそうです。しかし、話はそう単純ではありません。陸上植物と海洋の植物プランクトンでは、同じ光合成生物でも根本的に大きな違いがあるからです。

樹木が数年から数十年をかけてゆっくりと生長するのに対し、植物プランクトンは数日単位で新しい細胞にどんどん置きかわってゆきます。植林によって樹木が生長すると、その分だけ二酸化炭素が生物体として蓄積され、寿命が続く限り数十年あるいは数百年の間そこに固定されます。これに対して、植物プランクトンの光合成によって固定された二酸化炭素は、すぐに食物連鎖を通じて、他の微生物や動物プランクトンに消費され、再び二酸化炭素に戻ってしまうため、樹木のように植物体として二酸化炭素が長期間固定されることはありません。

海洋において二酸化炭素が吸収されるのは、単に植物プランクトンが増殖するからではなく、それに続く食物連鎖によって、生物の死骸や糞粒が深層に輸送される「生物ポンプ」作用があるからです。そのため、海洋施肥における二酸化炭素の吸収効果は、植物プランクトンがどれくらい増えたかではなく、増えたプランクトンがどれくらい沈んだかによって決まるのです。

商業的海洋施肥では、1gの鉄に対して二酸化炭素吸収量を5トンと見積もっています。そのためには同じく5トンの沈降量が必要なはずですが、上述の科学者たちによって行われたある鉄散布実験では、1gの鉄に対して実際に沈降した有機物量はわずか0.01トンでした。実際には、三次元的な広がりをもつ広大な海の中で、海洋施肥の効果を正しく評価するのは非常に困難な作業です。分析技術の飛躍的な進歩によって、海洋生態系の解析技術は格段に良くなりましたが、現状把握においてさえまだまだわからないことも多く、ましてや長期にわたる商業施肥の効果を予測するのは現時点ではほとんど不可能と思われます（図5.5.1）。

現在、公海上での鉄散布に対して、これを規制する有効な枠組みはありません。従って、仮に、海洋施肥が炭素排出権市場の商品となれば、商業ベ-

スでの海洋施肥は急速に拡大し、大規模かつ継続的に行われる可能性が高いと予想されます。こうした事態に対して、多くの海洋学者が生態系への悪影響を懸念しています。浮遊性プロクロロコッカスの発見者として著名な海洋学者であるマサチューセッツ工科大学のチズムは、米国の科学雑誌「サイエンス」2001年10月12日号、英国の科学雑誌「ネイチャー」2003年1月9日号において、商業ベースでの海洋施肥がもたらすであろう副作用を繰り返し指摘し、こうしたリスクをあえておかさすほどの二酸化炭素吸収効果はないと警鐘を鳴らしています。マーチン自身も、その可能性を示唆する一方で、Geritol Solution を実行するには、さらに科学的な検討が必要であるし、あくまで万策つきた場合の最終手段としてのみ検討の価値があると考えていたようです。

南カリフォルニア大学のフアマンは、海洋微生物学者の立場から、海洋施肥がもたらす副作用として、亜酸化窒素やメタンといった温室効果ガスの発生、同じく気候変動関連ガスであるジメチルサルファイドの発生、さらに植物プランクトン種の変化を挙げています（図5.5.2）。

施肥によって植物プランクトンの増殖が促進されると、微生物による窒素ガスからアンモニアへの窒素固定、アンモニアから亜硝酸、硝酸への硝化、硝酸から窒素ガスへの脱窒といった窒素化合物の変換サイクルが活発化します。それに伴って、変換過程での副産物である亜酸化窒素の発生量も増加することになります。亜酸化窒素は、同量の二酸化炭素に対して200倍の温室効果を示し、加えてオゾン層の破壊にも関与すると考えられています。また、増殖した大量の植物プランクトンは、いずれ微生物分解を受けることになります。大量の有機物分解によって、急速に酸素が消費され、そのため貧酸素水塊が発生し、底質が還元的な環境になってヘドロ状になる現象は、富栄養化した沿岸域でしばしば見られます。

メタンを生成する微生物は、絶対嫌気性の古細菌ですが、好気的な海洋表層水中でも動物プランクトンの消化管内や有機物粒子など局所的な嫌気環境に生息し、メタン生成を行っています。施肥によって、富栄養化した沿岸域と同様に嫌気的な環境に移行すると、二酸化炭素の20倍の温室効果を持つメタンガスの発生量が増加すると考えられます。

ジメチルサルファイドは、硫黄化合物の一種で、海洋においては植物プランクトンや海藻類によって生成されます。海藻特有のいわゆる「磯の香り」は、この物質に由来するものです。海洋表層で植物プランクトンが増殖し捕食活動が活発化すると、ジメチルサルファイドが放出され、大気中で酸化されて硫酸エアロゾルとなり、これが核となって雲が生成します。従って、植物プランクトンの増殖は、ジメチルサルファイドの生成を通して、気候変動に直接影響すると考えられています。

植物プランクトン種の変化については、人為的な環境変化によってもたらされる種組成の遷移がどうなるのか、残念ながら現在の生態系モデルで予測することは難しい状況です。これまで多く生息していたプランクトンが有害なものに代わる危険性を否定できないのです。ライン川やミシシッピー川では、流域の都市開発が進み、人為起源の窒素やリンの負荷量が増加したため、河口域の栄養塩濃度比が変化し、植物プランクトン構成種が珪藻から非珪酸質の種へとシフトしたことが報告されています。一般に、ある種の毒を生産し、魚介類に斃死をもたらすなど、有害なプランクトン種は非珪酸質のものであることが多く、そうした意味で好ましくない変化と言えます。こうした事例は、海域の栄養塩環境の変化が、植物プランクトン種の組成に強く影響を及ぼし、ひいては生態系全体に予測不能な変化をもたらすことを明瞭に示唆しています。

このように、温暖化対策としての大規模かつ継続的な鉄散布は、多くの看過できない問題を抱えており、その実効性はかなり怪しいと思われれます。一方で、科学的な実験としての鉄散布は、環境変化に対する海洋生態系の応答機構について、多くの有益な情報をもたらしてくれる効果的な手法でもあります。

過去の氷期—間氷期における大気中の二酸化炭素濃度の変動に海洋生態系がどのようにかかわっていたのか？ さらに、現在急速に進行しつつあるように見える地球温暖化に対して、海洋生態系がどのように応答し、地球規模での環境変動にどのようなフィードバック効果をもたらすのか？ こうした問いに答えるためには、海洋生態系のしくみとその変動機構について、もっと良く知る必要があります。比較的少量の鉄を用いて、数十～数百km²にも及

ぶ生態系の応答を引き出すことができる鉄散布実験は、そのための非常に効果的な実験手法といえるでしょう。

残念ながら、鉄散布による海洋施肥は、温暖化対策の直接的な切り札としては期待できそうにありませんが、生態系解析のための科学的な実験手法として、温暖化対策に必要な基礎的な知見を得るために、大いに役立つことは間違いのないでしょう。

エピローグ・スモールワールド

巷では、しばしば「エコロジー」という言葉が、「環境」と同義の用語として使われ、「環境にやさしい」という意味で、「エコロジカル」などという言い方がなされます。しかし、本来“ecology”とは、「生態学」のことで、1869年、ドイツの生物学者ヘッケルによって、ギリシャ語の「家庭」を意味する *oikos* と「学」を意味する *logos* から提唱された造語です。

生態学とは、生物にとっての「家庭」いわゆる、「自然環境」における生物の研究をさし、生物相互の関係あるいは生物とそれをとりまく環境との関係に注目する学問と言えます。微生物生態学の場合は、特に微生物とそれをとりまく環境との関係について研究します。生態学の教科書によれば、近代生態学の主題は、食物連鎖、個体群動態、物質循環、生物生産であり、さらに現代生態学においては、これら自然科学の要素に、社会、経済、政治といった社会科学の要素を加えた複合領域への方向性が示されています。

現在、私たちが抱えている様々な環境問題とそのために明らかにしようとしている事象は、まさに生態学の主題そのものです。物質循環の絶妙なバランスによって成り立っている自然生態系は、私達が目指している循環型社会のモデルであり、人間活動をいかに自然の物質循環に組み入れてゆくかが、あたらしい社会を構築する上での重要な課題です。その実現のためには、自然生態系における物質循環について、もっと良く知り理解を深める必要があります。

初めて出会った人と話をしているうちに、偶然にもお互いに共通の友人があることがわかった、「世間は狭いですね」などと言います。会話が英語の場

合は、有名テーマパークのアトラクションと同じく「イッツア、スモールワールド」と言うわけですが、米国滞在中や国際学会に参加して同業の研究者と話をしていると、このフレーズを使う場面に何度か出会いました。その時は、会話がはずんで良かった良かったと思うのですが、あとでよく考えてみると、同じ分野の研究者がいかに少ないかということの裏返しでもあるわけです。かつて、30年前に、スクリプス海洋研究所で海洋微生物学を担当していたある教授の講義は、まず米国大陸の地図を広げ、各地の海洋微生物学者の名前を挙げてゆくことから始まったそうです。今日ではそこまで少ないことはないでしょうが、それでも友達の友達が比較的簡単に見つかるくらいの規模なのです。

海洋に広がる多様で複雑な微生物の世界を、私たちはようやくおぼろげながら認識できるようになってきました。普段何気なく見ている海の中には、広大な未知の世界が広がっているのです。最近完了したヒトの全ゲノム解読に象徴されるように、近年の生命科学における技術革新は、加速度的に進んでいます。こうした技術は、広範囲な分野に派生し、様々な学問の発展を促進しているに違いありません。海洋微生物の研究分野も例外ではなく、新しい技術の導入によって未知の世界への扉が少しずつ開きつつあることを日々実感しています。第3章の第3節で書いたプロテオロドプシンの発見はその典型的な例でしょう。私自身の研究チームも、瀬戸内海や広島湾で微生物の研究を行っていますが、こうした身近な海でさえも、環境 DNA サンプルから、未だ培養されていない正体不明の微生物遺伝子が見つかるのは珍しいことではありません。これらの微生物は、生態系の中でどんな役割を果たしているのか？ 興味は尽きません。

自然環境中の微生物の99%は、コッホの時代からほとんど未解明のまま残されてきました。それから200年あまりが経過した今、世界中の誰もまだ知らない微生物があなたのチャレンジを待っているのです。生命科学の急速な進展の中で、私たちの研究分野にもこうしたチャレンジに必要な新しい道具が次々と供給され、これまでの常識を越えた何か新しいものが今にも生まれそうな気配に満ちています。そうした新しい発見が、私達が抱えている環境問題を解決する糸口を与えてくれることになるかもしれません。本書を通し

て、皆さんにそうした状況を少しでも感じていただき、新しい時代のコッホ
やパスツールを目指していただければ幸いです。