



環境儀

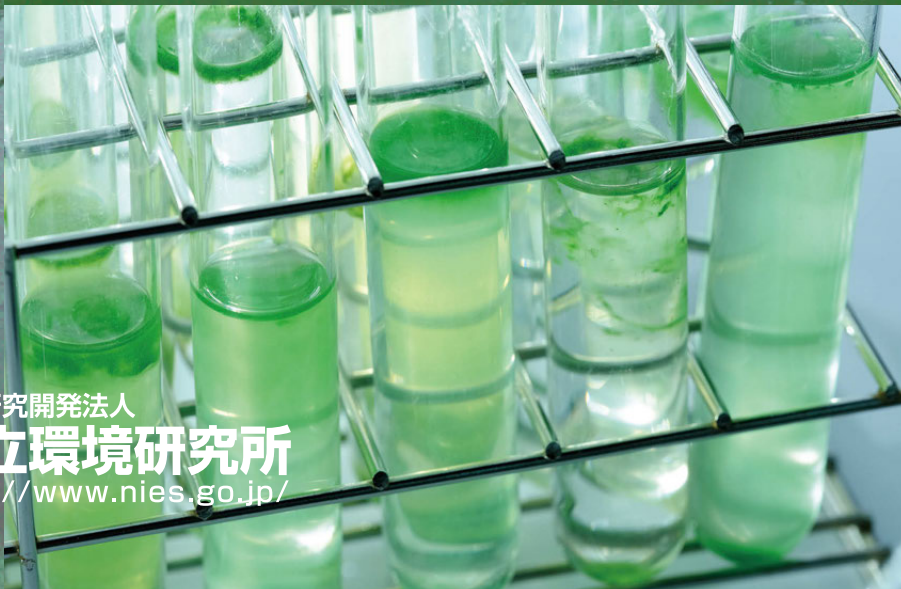
NO. 73 June 2019

国立環境研究所の研究情報誌



アオコの 実像

シアノバクテリアの
遺伝子解析からわかること





暑い夏、水面に浮かぶ青い粉
 —アオコ問題はまだ解決していません。
 シアノバクテリアの大量増殖は
 どのような環境で起こっているのでしょうか？
 遺伝子解析によりアオコの実像を明らかにしました。

日本の高度経済成長とともに、湖の水質は急激に変化しました。処理されないまま流れ込む生活排水、特に洗剤に添加されたリン酸塩は湖の生態系を大きく変えました。農地に過剰に投入された肥料、また野積みされた畜産廃棄物、未処理の生活排水などからの窒素・リンの影響により日本の多くの湖にはアオコ現象が発生し、社会問題になりました。1970年に水質汚濁防止法が、1984年には湖沼法が制定され、現在でも水質回復に多くの努力が払われています。

国立環境研究所では研究所発足2年後の1976年から霞ヶ浦(西浦)のモニタリングを実施しています。霞ヶ浦では1973年から1986年頃まで毎年のようにアオコが発生していましたが、その後2005年まで、アオコの発生は見られなくなりました。しかし、アオコの原因藻類であるシアノバクテリアは湖水中で生存していました。そして、2011年の夏に社会問題となるほどのアオコ現象が生じました。シアノバクテリアはこの間どのような挙動をしていたのでしょうか。

本号では、低濃度のシアノバクテリアを正確に捉える手法としての16S リボソームRNA遺伝子濃度の計測と、シアノバクテリアの挙動と環境因子との関係、また、アオコの原因シアノバクテリアの代表である、*Microcystis aeruginosa*の挙動について、次世代シーケンサーを使った遺伝子解析の成果を報告します。

CONTENTS

アオコの実像

シアノバクテリアの
 遺伝子解析からわかること

- Interview 研究者に聞く
 アオコ原因シアノバクテリアの遺伝子解析から
 アオコの生態をさぐる p4 ~ 9
- Summary
 遺伝子解析を用いてアオコを解明する
 p10 ~ 11
- 研究をめぐって
 アオコの発生しない湖のために私たちは
 何をすればよいのでしょうか p12 ~ 13
- 国立環境研究所における
 「シアノバクテリアに関する研究」の
 あゆみ p14

アオコ原因シアノバクテリアの 遺伝子解析から アオコの生態をさぐる

霞ヶ浦は茨城県南東部に広がり、古くから人々の生活に関わる身近な湖でした。1970年代はじめまでは水生植物が繁茂していましたが、1970年代中頃になるとアオコの大量発生などの異変が起こるようになりました。国立環境研究所ではこのような霞ヶ浦の変化の原因を解明するため、1976年から霞ヶ浦の水質や生物に関わる調査を続けています。アオコ現象を解明するためには、アオコの原因となる藻類であるシアノバクテリアの多様性・存在量の把握が重要です。地域環境研究センター主任研究員の富岡典子さんは、アオコ測定のためにDNAによる定量法を開発しました。さらに生物・生態系環境研究センターの山口晴代さんも加わり、DNAの塩基配列を解析することによりアオコ原因シアノバクテリアの多様性を研究しています。



富岡 典子(とみおか のりこ)
地域環境研究センター
(環境技術システム研究室)主任研究員



山口 晴代(やまぐち はるよ)
生物・生態系環境研究センター
(生物多様性資源保全研究推進室)主任研究員

霞ヶ浦の富栄養化問題に取り組む

Q：富岡さんが研究を始めたきっかけは何ですか。

富岡：私は微生物学が専門で、1984年に国立公害研究所(国立環境研究所の前身)に入所しました。その当時は、霞ヶ浦でアオコの発生が一番ひどい時期でした。アオコとは、湖の窒素・リン濃度が高くなる富栄養化にともなって、シアノバクテリア(コラム1参照)が大増殖し、湖などの表面が粉を吹いたような青緑色になる現象のことです。私は入所後まず霞ヶ浦(西浦)のほとりの臨湖実験施設(現水環境保全再生研究ステーション)に配属されました。そこで、アオコの研究を始めました。

Q：研究所は霞ヶ浦のアオコ現象を解明するために、環境モニタリングに取り組んできたのですね。

富岡：国立公害研究所ができた1974年は霞ヶ浦のよごれにもおもひどくなり、行政もなんとかしなければならぬと動きだした時期です。アオコは水温の高い夏に発生し、冬になると消えます。また、冬には夏のアオコとは別種のシアノバクテリアが原因でカビのようなにおいがすることがあります。アオコによる毒素の産生も懸念されていました。霞ヶ浦は西浦の他、北浦、外浪逆浦(そとなさかうら)などの水域からなりますが、その頃、北浦はまだきれいだったので、西浦の観測に力をいれていました。

Q：アオコ現象はずっと続いたのですか？



霞ヶ浦で発生したアオコ

霞ヶ浦全域調査で使用している調査船NIES94

富岡：私が入所した1984年の夏は、土浦港ではアオコがマットのようになり、水鳥がその上を歩けるほどでした。ところが1987年になるとアオコが消えてしまい、2004年までほとんどアオコは発生していません。その後、アオコの原因となるシアノバクテリアが徐々に増加し、東日本大震災のあった2011年の夏にまた、大きな社会問題となるほどのアオコ現象が起きました。また、以前対策は不要と考えられていた北浦でも近年アオコが発生しています。

Q：このようなアオコの動態はどうやって調べるのですか。

富岡：霞ヶ浦全域調査ではアオコの原因となるシアノバクテリアの数や体積を計測してきました。シアノバクテリアは多くの細胞が集まり、群体(コロニー)を

形成しています。そのため、アオコのコロニーをほぐしたのち、顕微鏡で観察します。ほぐさないとうまく計測できないのですが、ほぐしすぎるとアオコは死んでしまうため、これは職人技を要するほどむずかしいものでした。そこで、しだいにアオコの遺伝子を使えばうまくいくのではないかと考えるようになりました。1999年から全域調査でDNAを使ったアオコの計測のための試料採取と手法開発を始めました。

アオコを測る

Q：どうやって新しい方法を開発したのですか。

富岡：まず、霞ヶ浦で集めた試料からDNAを抽出します。その後、定量PCR(コラム2参照)という方法を使って、アオコの原因のシアノバクテリアの遺

コラム①

アオコ現象の原因となるシアノバクテリア

アオコ現象は原核生物であるシアノバクテリアの増殖のことをいい、アオコを形成するシアノバクテリアにはいくつかの種類が知られています。日本でアオコを形成する種としては、*Microcystis*属、*Dolichospermum*属、*Planktothrix*属などが有名です(図1)。

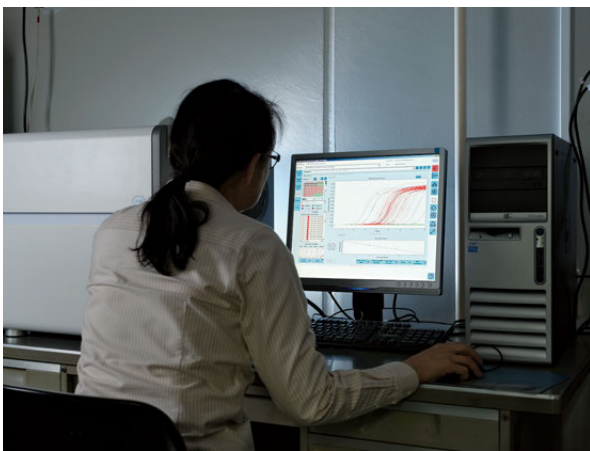
*Microcystis*属と*Dolichospermum*属は淡水の湖沼でふつうに見られるアオコ原因シアノバクテリアです。このうち、*Microcystis*属ではその一部がミクロキスチンと呼ばれる肝臓毒を産生します。また、一部の個体では、におい物質を発生して悪臭の原因になりますが、その原因物質はほとんどわかっていないのが現状です。*Planktothrix*属は*Microcystis*属ほど頻繁ではありませんが、霞ヶ浦で冬期にアオコを形成することが報告されています。*Planktothrix*属によるアオコは、水道水のカビ臭の原因になることが知られています。



■ 図1 アオコ現象の原因となる代表的なシアノバクテリア *Microcystis*属(左上)、*Dolichospermum*属(右上)、*Planktothrix*属(下)の細胞の光学顕微鏡写真を示しています。スケールバーの長さは20 μm。



国立環境研究所の微生物系統保存施設 (NIES コレクション)



アオコの定量解析

伝子だけを増幅させ、その増幅の程度からシアノバクテリアの遺伝子の濃度を測定します。定量PCRは特定の遺伝子を増幅する手法ですが、霞ヶ浦のアオコの主原因となるシアノバクテリアの*Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*) だけを増幅するためには、その遺伝子に特有の塩基配列(プライマー)を作らなければなりません。

M. aeruginosa と言っても顕微鏡で見ると群体の形も、細胞の大きさも異なるいろいろな種類が存在します。そして、遺伝子で見ると*M. aeruginosa* 同士でもそれぞれの持つ塩基配列もまた、少しずつ違います。他のシアノバクテリアやバクテリアの遺伝子は増やさないけれども、様々なタイプを含んだ*M. aeruginosa* の遺伝子は全て増やすプライマーを見つけ出す。そのためには、遺伝子の塩基配列の中から、*M. aeruginosa* のタイプ間では共通だけれども、他のバクテリアとは異なる部分を見つけなければなりません。この作業に大変時間がかかりました。

1999年からこの研究を開始したのですが、その当時は塩基配列のデータベースも不十分で、プライマーを設計するソフトも十分ではありませんでしたから、

霞ヶ浦でアオコ現象を起こしている*M. aeruginosa* の塩基配列を調べ、試行錯誤を繰り返し、2006年頃になってようやく正確に*M. aeruginosa* の濃度を測定できるようになりました。

Q：時間がかかりましたね。

富岡：はい。今だったらもっと簡単にできたでしょうね。近年の技術の進歩をみると隔世の感があります。分析機器の価格も安くなり、だれでも測定できる方法になりました。なんとか定量法ができたので、霞ヶ浦ばかりでなく、メコン河のダム湖やトンレサップでもこの方法で測定しました(コラム3参照)。職人技によらずに*M. aeruginosa* などのアオコ原因シアノバクテリアの濃度の計測ができるようになり、アオコに至る増殖条件を調べることができました。シアノバクテリアは光合成をするので増殖には温度と光が必要です。1987年にアオコが消えたのは、透明度が低下し、光が不足したためだとわかりました。一方、光がたっぷりあっても、リンまたは窒素を抑えると増殖しないことがわかり、行政も窒素の抑制に力を入れています。リンは霞ヶ浦の底泥に高濃度に残留していて、夏になると湖水に供給されます。リンの底泥からの供給を減らすことも、今後の重要な対策になると考えています。

霞ヶ浦のアオコの種類や動態を 遺伝子解析から明らかにする

Q：山口さんはどんな研究をされていますか。

山口：私は2014年に国立環境研究所に入所しました。所内の微生物系統保存施設(NIESコレクション)には約4,000の藻類や原生動物の培養株が保存されており、私はこれらの培養株を収集・保存・提供するという保存事業に従事しています。NIESコレクションには霞ヶ浦の藻類がたくさん保存されています。また、霞ヶ浦では、アオコなど負の側面が目立っていますが、霞ヶ浦にいるシアノバクテリアにはいろいろな種類があり、大增殖してアオコの原因になるものもあれば、他の生物の餌になるものもあり生態系で重要な役割をはたしています。私はこれらのアオコ原因シアノバクテリアの遺伝子解析も行っています。

Q：遺伝子レベルでアオコを形成するシアノバクテリアを調べるのですか。

山口：はい。アオコを形成するシアノバクテリアといってもいろんな種類があるのです。アオコが発生するときにはどんなシアノバクテリアが増えているのかは見ただけでは区別できないので、まずは顕微鏡で区別するのですが、遺伝子レベルで見るとどんな性質をもったシアノバクテリアがいるのか知ることもできます。2010年頃から次世代シーケンサー(コラム4

参照)が開発されると、解析技術にブレークスルーが起り、現在では大量に塩基配列を取得し、それを利用するといった生物情報学を用いた研究が加速しています。

Q：これまでにどんなことがわかりましたか。

山口：霞ヶ浦でアオコを作る藻類の中では、シアノバクテリアの *M. aeruginosa* が有名です。この種の機能遺伝子の塩基配列を解析することによって、種内を12系統に分類できるようになりました。また、12系統のうち3系統がアオコの毒素の一種であるマイクロキスチンを産出することが、遺伝子解析により明らかになりました。

加えて、*M. aeruginosa* の全ゲノム解析をしてみると、培養株によってゲノムの大きさや遺伝子の数も大きく異なっていました。つまり、同種であってもゲノム的にみるとかなり中身が違います。

富岡：形態によるシアノバクテリアの分類と毒性の関係はほとんどわかっていません。これまで集めてきた藻類培養株を活用して毒性との関係などを明らかにしてほしいですね。

アオコを形成するシアノバクテリアは 激動の淡水環境での成功者

Q：シアノバクテリアの生態はわかってきましたか。

山口：これまでの研究の成果で、霞ヶ浦のアオコをつくるシアノバクテリアの生態や動態がわかり始めました。湖などの淡水環境は気温、降雨の影響、栄養塩や有機物の流入など環境変化が激しく、大増殖を引き起こすといった淡水の成功者になるには厳しい環境です。私は生態の目とともに遺伝子の目でシアノバクテリアの淡水環境での生き様を捉えたいと考えています。

Q：シアノバクテリアは地球上に酸素をもたらした原始的な生物でしたね。

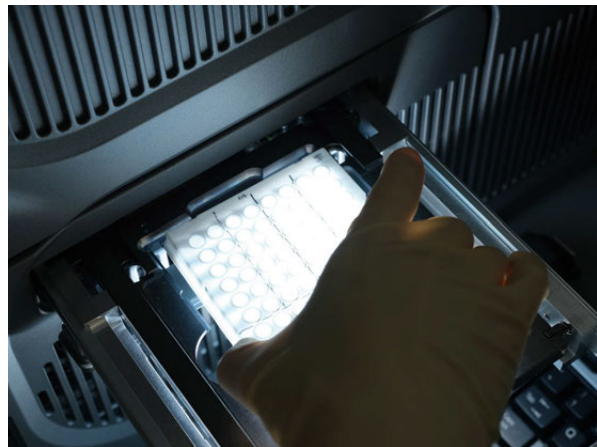
山口：そうですね。シアノバクテリアのようなバクテリアでは、個体間で遺伝子がいったりきたりする遺伝子の水平伝播という現象が頻繁に起きることが知られています。そのため、新たな遺伝子を獲得することで、今まで生きられなかった環境にも適応することができるといったすごい生き物のひとつです。たとえば、本来は塩分に弱いはずのシアノバクテリアが塩分のある汽水域でも大量発生しています。この塩分耐性は遺伝子の水平伝播により獲得した形質です。シアノバクテリアのゲノムには、何の遺伝子もコードしていない領域が多くあり、そこに新しい遺伝子が入りやすい構造をしているので、これが生き残るためのアドバンテージになっているのでしょうね。

富岡：シアノバクテリアはたくさんの遺伝子を持って

コラム②

定量 PCR 解析とは

1990年代からPCR (polymerase chain reaction) と呼ばれる、DNAを増幅する技術が発達してきました。PCRにはその遺伝子に特有の塩基配列を持つ、2つのプライマーが必要です。この2つのプライマーで挟まれた部分を倍々に増やしていく手法がPCRです。この手法を使えばもとのDNA量の数万倍以上にDNA量を増やすことができます。16S リボソームRNA 遺伝子は細胞内小器官のリボソームを構成するRNAの遺伝子で、全ての生物が持っています。その配列は生物の種類によって異なります。そこで目的の生物の16S リボソームRNA 遺伝子に含まれる塩基配列をプライマーとして使って、PCRをすることで、そこに、特定の生物がいるかどうかわかります。しかし、普通のPCRは目的の遺伝子の有無までしかわかりませんでした。今使われている定量PCRは目的遺伝子のDNAをPCRで増やしなが、DNAが増えていく状況を蛍光により、もとのDNA量を推定できる手法です。これによって、湖水中の特定のシアノバクテリアの存在量を正確に測定できるようになりました。



■ 図2 定量 PCR での遺伝子濃度の測定 (LightCycler480)

おり、何に使っているのかわからない遺伝子がたくさんあります。約30億年も生き残ってきたシアノバクテリアが持ち続けている遺伝子には、なにか意味があるのではないかと考えています。やがて遺伝子レベルの研究で解明されるのではないかと未来に期待しています。

Q：ほかにも興味深い性質はありますか。

富岡：アオコは水面に浮く性質があります。シアノバクテリアには浮く種類と浮かない種類があり、浮く種類のシアノバクテリアは浮袋 (ガス胞) を持っていて水の表面に浮くことができるのです。アオコの原因になるシアノバクテリアは環境が良ければ1日に1回分裂するので、数週間で大増殖し、水面一面に広がりま

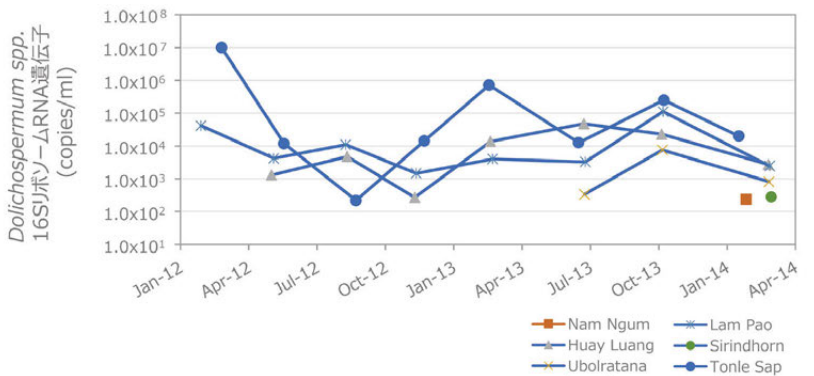
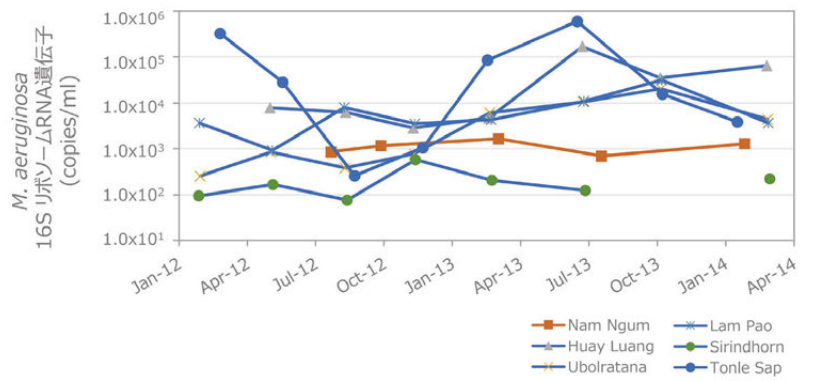
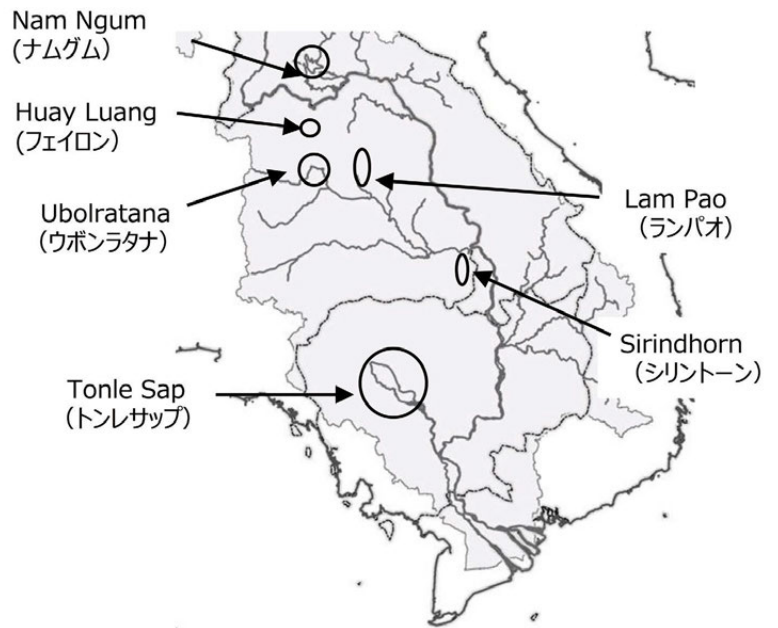
コラム③

海外でのサンプリング

海外でのサンプリングは、はじめは不安でしたが、とてもフレンドリーで協力的な研究者と一緒に楽しく調査ができました。私が調査したのは、タイ王国、カンボジア王国、ラオス人民民主共和国の東南アジアの3つの国のダム湖と湖沼です。暑い国々なので、採取したサンプルの保存はとても大変でした。大学に行けば冷蔵庫も冷凍庫もあるのですが、湖の近くでは氷を買うのがやっと、クーラーボックスに入れておいてもすぐに氷が溶けてしまいます。冷蔵の宅配便もないので、試料を運ぶのも一苦勞でした。日本ではシアノバクテリアは夏にだけ高濃度になります。一方、熱帯、亜熱帯域ではアオコの原因となるシアノバクテリアは比較的濃度で、*Microcystis aeruginosa*によるアオコ現象も見られませんでした。季節変化で言えば、トンレサップでは乾期にアオコ原因シアノバクテリア濃度は高く、雨期にはメコン河から水が逆流してくるので、その濃度は減少します。また、タイの浅いダム湖のフェイスロン湖でも雨期と乾期では水深が大きく変わり、やはり乾期にアオコ原因シアノバクテリアの16S リボソームRNA遺伝子の濃度が高くなっています。

■ 図3 メコン河流域ダム湖及びトンレサップのアオコ原因シアノバクテリアの季節変化
調査対象とした、メコン河流域のダム湖とトンレサップの位置と *M. aeruginosa* の季節変化。

全リン濃度で分類した場合、フェイスロン、トンレサップは富栄養湖（全リン濃度平均0.035～0.1mg/L）に、ランパオ、ウボンラタナは中栄養湖（全リン濃度平均0.001～0.035mg/L）に、ナムグム、シリントーンは貧栄養湖（全リン濃度平均0.001mg/L以下）に分類される。



ラオスでの調査の様子



トンレサップでの調査の様子

す。アオコ対策としてバキュームカーで吸いとるほどです。表面に浮くことができれば、光を独占できるので、その場所で生きのびるのに有利になります。

山口：肉眼ではどれも同じように青緑色に見えるアオコですが、顕微鏡で見るといろいろな種類のシアノバクテリアから成り立っていることがわかります。また、同じ種であっても、その個体がおもつ遺伝子の違いによって環境に対する応答も違います。実はアオコを形成するシアノバクテリアのことがわかっているようでわかっていないのです。遺伝子解析を進めてはじめてわかることも多く、今後もさらなる遺伝子解析が必要とされています。

アオコ研究に貢献するNIESコレクション

Q：今後の研究にどんなことを望みますか。

富岡：アオコの研究が続くことですね。霞ヶ浦のアオコのモニタリングが始まって40年たちます。1999年からは、DNA用試料の採取が始まり、20年分のサンプルが冷凍保存されています。残念なことに、2011年の震災による停電でその試料の一部が解けてしまいました。解けてしまうと定量PCRに使うことはできません。でも解析技術がもっと進んだら、どんなバクテリアがいるか、どんな遺伝子があるかなどの解析には利用してもらえるのではと期待しています。

山口：国立環境研究所のNIESコレクションから提供した培養株は世界中の研究者に使われており、たくさん研究論文が出ています。特に、NIESコレクシ



培養しているアオコ原因シアノバクテリア

ンでは数多くのアオコ原因シアノバクテリアの培養株を保存・提供していることから、アオコの研究に貢献していると認識しており、これを大切に守っていききたいと思います。また、私自身がアオコの研究を進めることで、霞ヶ浦などの日本の湖沼の生態系を理解し、良い環境を守っていききたいです。将来はアオコの発生予測をしたいですね。夏本番になる前に、アオコを作るシアノバクテリアの種類やその毒性がわかれば、夏本番にどのような種類がアオコを作る可能性があるのか、大まかに予想できるので、アオコの注意報が出せると考えられます。アオコの注意報を出さなければならぬ未来の湖沼環境ではなく、日本の多くの湖沼で湖水浴ができるような綺麗な湖沼環境になるといいなと思います。

コラム④

次世代シーケンサー

生命の設計図はDNAに刻まれています。DNAを構成する塩基の結合順を表したものが塩基配列であり、現在、その塩基配列を高速かつ大量に解読する技術が生命科学の研究分野で利用されています。この高速かつ大量の塩基配列を解読する装置のことを次世代シーケンサーと呼びます。次世代シーケンサーが広く利用されるようになったことで、遺伝子解析にかかるコストが格段に下がりました。現在、実験室の中で使う卓上型の次世代シーケンサーが主流ですが、最近では、USBメモリ型の次世代シーケンサーも発売されており、野外調査に行ったその場所で塩基配列を即座に取得することも可能な時代になってきています。環境研究分野での次世代シーケンサーの利用としては、アオコなどの環境問題の原因となる生物の同定の他、水圏にすむ微生物や魚（絶滅危惧種を含む）などの種類の把握や、ヒトにとって有用な微生物由来の遺伝子の探索などがあります。



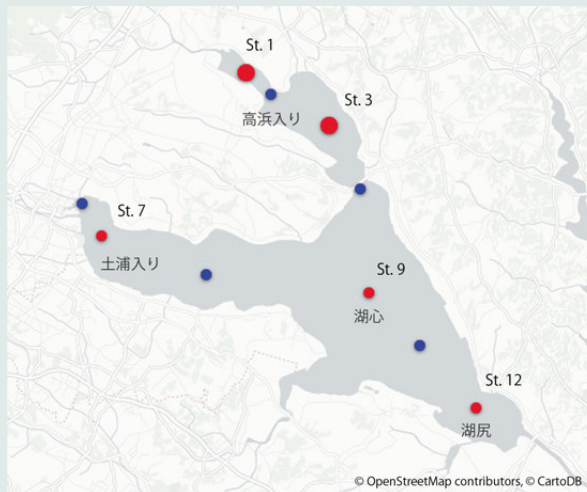
■ 図4 次世代シーケンサーによる塩基配列のデータ取得の様子
国立環境研究所では、デスクトップ型のパーソナル次世代シーケンサーを2台保有しており、これらを利用して、大量の塩基配列データを取得しています。

遺伝子解析を用いてアオコを解明する

アオコの発生の原因となる藻類であるシアノバクテリアは小さくて顕微鏡でしか捉えられません。この小さい生き物が私たちの生活を脅かすことがあります。そこで、この小さな生き物について、遺伝子を武器に解析しました。

アオコの霞ヶ浦での挙動

霞ヶ浦(西浦)は平均水深が4mと浅く、広さの割に貯水量が少ないため、富栄養化しやすい湖です。国立環境研究所では、1976年からモニタリングを行っています。現在まで継続してモニタリングを行っているサイトは10地点です(図5)。アオコ現象は、湖心や湖尻では夏でもほとんど見られず、湾奥でよく発生します。16S リボソームRNA遺伝子で *Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*) の定量が可能になった1999年以降のSt. 1とSt. 3の*M. aeruginosa*の16S リボソームRNA遺伝子濃度の変化を図6に示します。1.0x10⁶ copies/mlを超えるとアオコ発生の危険があります。2000年に高浜入りでアオコが発生して以降、2004年まで*M. aeruginosa*濃度が減少しました。2005年以降徐々に夏の濃度が上昇し、2011年に大きなアオコ現象が高浜入りと土浦入りで発生し、社会問題となりました。その後、2012年も*M. aeruginosa*は高浜入りでは高い濃度で推移し



■ 図5 霞ヶ浦西浦における調査地点

霞ヶ浦データベース測定地点は10地点(赤丸・青丸)、そのうちアオコ原因シアノバクテリア測定地点は5地点(赤丸)、図6に季節変化を記載した2地点は大きな赤丸で示してあります。

1999年から霞ヶ浦データベース調査と同時に、高浜入り2地点、土浦入り1地点、湖心1地点、湖尻1地点でDNAを使ったアオコ原因シアノバクテリアの存在量の定量を実施してきました。

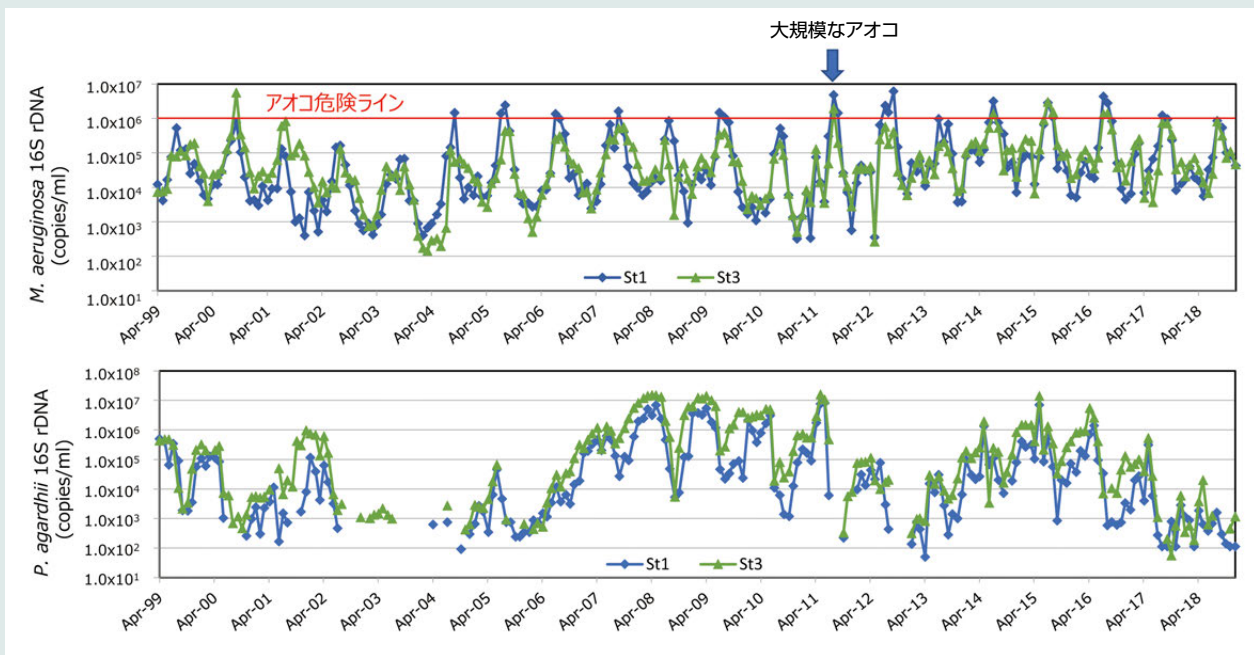
土浦入りの湾奥、高浜入りでは2005年から目視の*M. aeruginosa*によるアオコ現象が認められ、2011年には大規模なアオコが発生しました。一方、湖心、湖尻、土浦入りの調査地点では、1999年以降、目視での大規模なアオコ現象は認められていません。図は国立環境研究所霞ヶ浦データベースを元に作成。

ていますが、2012年の高浜入りでは茨城県霞ヶ浦環境科学センターの発表によるとアオコ現象は観察されていません。その後も、2014年、2015年夏は*M. aeruginosa*の16S リボソームRNA遺伝子濃度は1.0x10⁶ copies/mlに近い値になっていますが、大規模なアオコ現象は観察されていません。私たちの霞ヶ浦全域調査で顕微鏡観察を担当している中川恵氏によれば、2011年の*M. aeruginosa*は細胞が大きかったとのこと。アオコ現象を予測するには、濃度だけでなく、群体形成能や細胞の大きさなど種内のグループについての情報も必要ことがわかりました。

また、*M. aeruginosa*の16S リボソームRNA遺伝子濃度が比較的低かった、2006年から2011年春にかけて、別のアオコ原因シアノバクテリアの *Planktothrix agardhii* (*P. agardhii*) の16S リボソームRNA遺伝子濃度が急激に増加しています。この期間にアオコ原因シアノバクテリアの種の遷移が起こっているのがわかります。2000年以降2010年までは、霞ヶ浦の透明度が低くなっており、光環境がシアノバクテリアの種の遷移を引き起こした可能性が高いと考えられます。

遺伝子解析による *M. aeruginosa* の詳細な解析

バクテリアは多くの種において、その細胞サイズが小さいために顕微鏡で属レベルでも種レベルでもその違いをかたちで見分けることは困難です。バクテリアの中でも細胞サイズが一際大きいシアノバクテリアにおいては、属レベルであれば、それなりの訓練を積みれば区別可能ですが、種レベルの識別になると他のバクテリアと同様に区別することが難しくなってきます。現在では、この顕微鏡観察では区別できない違いを遺伝子解析で区別できることがわかってきています。現在まで、16S リボソームRNA遺伝子が種分類の指標とされる遺伝マーカーとして、広く利用されていますが、種レベル以下のさらに細かい違いを見るには解像度が不足していることも知られていました。しかしながら、近年、DNAの塩基配列を高速かつ大量に取得する次世代シーケンサーが広く利用されるようになったことで、16S リボソームRNA遺伝子以外の機



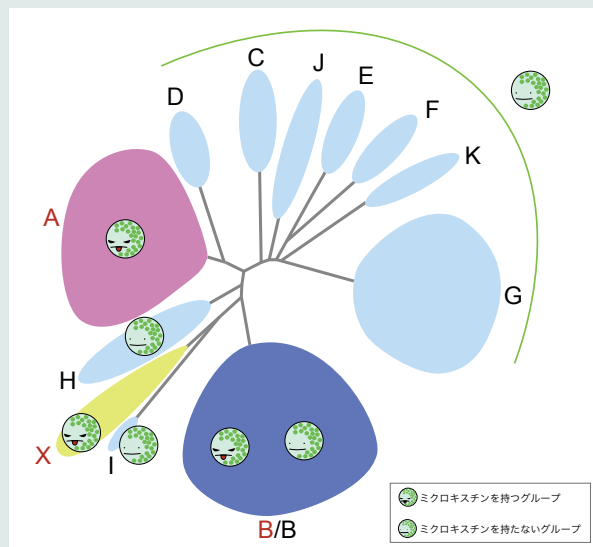
■ 図6 霞ヶ浦のアオコ原因シアノバクテリアの季節変化
 1999年4月から2018年12月までのSt. 1とSt. 3のアオコ原因シアノバクテリアの16S リボソームRNA 遺伝子の湖水中濃度変化を示しています。上の図は *M. aeruginosa* の濃度で、春から増え始め夏にシャープなピークを示しています。その後秋から冬にかけては減少しているのがよくわかります。顕微鏡観察、目視確認との比較から、16S リボソームRNA 遺伝子濃度が 1.0×10^6 copies/ml を超えるとアオコの危険があります。St.3 では2001年から2010年まで夏のピーク時でも 1.0×10^6 copies/ml を超えることはありませんでしたが、2011年にこの値を超えて、その後ピークは 1.0×10^6 copies/ml 前後で推移しています。一方、*P. agardhii* は *M. aeruginosa* が減少していた期間に濃度が増加しています。その季節変化は *M. aeruginosa* とは異なり、冬から初夏にかけて高い濃度で推移しています。*P. agardhii* は上水道のろ過の際、砂ろ過をすり抜けるので大きな問題になりました。

能遺伝子についても比較的簡単に配列を取得できるようになってきました。機能遺伝子とは生命活動の維持に必要なタンパク質をコードする遺伝子などを指し、16S リボソームRNA 遺伝子よりも塩基配列の変異が多い分、種レベルや種内での違いを区別することに適しています。そこで、私たちはアオコ原因シアノバクテリアの代表格である *M. aeruginosa* を対象に機能遺伝子を比較することで、詳細にアオコを区別し、いどこにどんな性質をもった *Microcystis* 属がいたのかを明らかにする研究を行っています。機能遺伝子の比較解析の結果、*M. aeruginosa* は種内で12の遺伝的に区別される系統に分けられ、その一部が肝臓毒であるミクロキスチンを作ることがわかってきました(図7)。

アオコの富栄養湖における増殖因子

シアノバクテリアの増殖には光、栄養、温度が必要で、日本では、秋から春にかけては、光と温度が律速因子となり、アオコの原因となるシアノバクテリアは極端に減少します。その後6月から8月にかけて急激に増えます。この、夏の増え方がアオコ現象の発生を左右します。1999年~2007年までの *M.*

aeruginosa の夏の増殖速度は日射量と透明度で説明できましたが、それ以降は光では説明できなくなりました。現在の律速因子としては栄養塩が重要と考えられます。シアノバクテリアは窒素、リンのどちらかが不足すると増殖できません。2005年~2011年春までの *P. agardhii* の増加は弱い光でも増殖できる *P. agardhii* が栄養塩を独占できたためと考えられます。一方、2011年以降は春にリン濃度が低下し、夏には窒素濃度が低下しています。春の *P. agardhii* の減少は春のリン濃度の低下、夏の *M. aeruginosa* の減少は夏の窒素濃度の減少と関連があったと考えられますが、栄養塩の変化の原因やシアノバクテリアのこれら環境因子の変化への応答については詳細な解析が必要です。



■ 図7 *M. aeruginosa* は遺伝的に12の種内系統群に分けられる
 複数の機能遺伝子を用いた分子系統解析の結果、*M. aeruginosa* は大まかに12の種内系統群に区別できることがわかってきました。そのうち、肝臓毒であるミクロキスチンを産生するのは、系統AとX、系統Bの一部であることも明らかになってきました。他の系統の *M. aeruginosa* は、ミクロキスチンを産生しませんが、その他の二次代謝産物を産生することが知られています。

アオコの発生しない湖のために 私たちは何をすればよいのでしょうか

日本でアオコ現象が問題になってから50年が経ちました。その間にアオコの原因となるシアノバクテリアの生態も明らかとなり、私たち自身が湖のアオコを招いていることもわかってきました。霞ヶ浦西浦の大規模なアオコは収束方向にあるように見えますが、霞ヶ浦北浦、八郎湖、そして世界にはアオコで困っている湖がまだまだあります。アオコ原因シアノバクテリアの研究を通じてアオコの発生をコントロールしながら、アオコの発生しない湖を目指したいと思います。

世界では

中国では、21世紀に入ってアオコの発生が頻発するようになり、特に太湖や巢湖において、深刻なアオコが発生し、水利用に重大な支障をきたすようになっていきます(図8)。そのため、近年では*Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*)によるアオコの発生状況、毒素の濃度に関する研究が増加しています。やはり、窒素・リンの供給過剰が問題であるとして、最近、中国では、環境基準が強化されていますが、水質の改善には至っていないようです。

アフリカにおいても、人口増加に伴い、ビクトリア湖を始め、ジョージ湖、エドワード湖などの湖においてアオコが発生しています。日本人研究者も研究に参加していますが、水道の普及が進んでいないケニアやウガンダでは、飲料水としても利用されており、アオコ問題は大きな課題となっています。一方、東南アジアでは年間平均気温が高く、冬の栄養塩や有機物の蓄積がないので、温帯や亜寒帯地方よりもアオコが発生

しにくいのですが、経済発展を優先して対策が取られておらず、今後の水利用への障害が懸念されています。

日本では

日本では生活排水の処理などの対策が進み、多くの湖ではアオコの発生件数は減少しています。しかし、秋田県の八郎湖のように、現在でも毎年アオコが発生し問題になる湖もあります(図9)。窒素・リンは生活排水の他に、農地、畜産、宅地などの面源などからも供給されており、対策が困難な場合もあります。八郎湖の場合、湛水期の農地からの窒素の排出をどうやって抑えるかが課題になっています。

また、八郎湖の高濃度のリンによる富栄養化は湧水の影響も大きいことが試算されており、問題解決を難しくしています。さらに、普通は秋にはアオコは収束しますが、緯度が高く寒冷にもかかわらず、八郎湖では初冬までアオコが残存しており、耐寒性があるのではとの報告もあります(図10)。今後、*M. aeruginosa*の耐寒性への遺伝子解析によるアプロー



■ 図8 中国太湖のアオコの状況
2016年に中国太湖で撮られた写真です(国立環境研究所 徐開欽氏提供)。風光明媚で知られていた太湖で*M. aeruginosa*によるアオコが報告されたのが1996年で、近年も湖を覆うアオコが報告されています。



■ 図9 八郎湖のアオコ（夏）

2018年8月に八郎湖で撮影された *M. aeruginosa* によるアオコの写真です（秋田県立大 岡野邦宏氏提供）。湖水は増殖した *M. aeruginosa* によって緑のスープ状になり、水面に浮かんだアオコの群体がヒシの群落を覆い尽くしています。



■ 図10 八郎湖のアオコ（初冬）

2018年11月の八郎湖のアオコの写真（秋田県立大 岡野邦宏氏提供）です。東北の初冬にもかかわらず、アオコの群体が湖面に残存しています。湖水の色は緑から茶色に変わり、湖水中の *M. aeruginosa* の濃度は夏に比べて減少しています。

ちも必要です。

また、窒素・リン濃度は霞ヶ浦よりも低い琵琶湖南湖でも毎年のようにアオコが発生しています。霞ヶ浦でも、北浦で毎年のようにアオコが発生し、西浦においても、*M. aeruginosa* 濃度はアオコ発生ぎりぎりの状態で推移しています。さらに、浅いため池などでは引き続き、アオコの発生が水利用の大きな障害になっており、*M. aeruginosa* の増殖とアオコに至る過程、春から夏の窒素・リン濃度の制御など今後さらなる研究が必要になります。

国立環境研究所では

これまでに、アオコ原因シアノバクテリアの濃度の季節変動と、環境因子の関連から、複数の因子が霞ヶ浦のアオコの発生の有無にかかわっていること、*M. aeruginosa* の系統によって、毒素の産生の有無が異なることが明らかになってきました。今後も、引き続き霞ヶ浦のアオコ原因シアノバクテリアの種の遷移、また、*M. aeruginosa* の中での系統の変遷の調査を

継続するとともに、富栄養化した湖沼の流域管理による、アオコ発生の抑止に関する調査研究を実施していく予定です。

また、微生物系統保存施設（NIESコレクション）では、*Microcystis* 属、*Planktothrix* 属、*Dolichospermum* 属、*Raphidiopsis* 属（旧属名：*Cylindrospermopsis* 属）の培養株を数多く保存しており、とくに *Microcystis* 属の培養株は国内をはじめ、海外の研究者からも多くの需要があり、リクエストに応じて分譲を行っています。これらの培養株を使って、多くの研究成果が生み出されていることから、NIESコレクションでは今後も安定的に培養株の供給ができるように努めていきます。

さらに、地球温暖化などの気候変動によって、今後、アオコの頻発やアオコ原因シアノバクテリア組成の変化が想定されます。国立環境研究所では、気候変動に伴うアオコ問題についても2018年度から研究を開始したところですが、今後もアオコ研究を続けることで、新たな問題にも対処していきたいと考えています。



■ 図11 NIESコレクションでのアオコ原因シアノバクテリアの保存・提供

NIESコレクションでは、約4,000株の微細藻類の保存、提供を行っています。その中でもアオコ原因シアノバクテリアは約450株保有しています。これほど、アオコ原因藻類を保存している藻類カルチャーコレクションは、世界でも稀です。

国立環境研究所における 「シアノバクテリアに関する研究」のあゆみ

国立環境研究所では、シアノバクテリアに関する研究、藻類の多様性研究を行っています。
ここでは、その中から、これらに密接に関係する研究課題について、そのあゆみを紹介します。

年度	課題名
1985～1987	湖沼の水質管理に関する基礎的研究
1990～1994	湖沼における藻類増殖促進および抑制物質の解明に関する研究
2000～2001	核酸プローブを用いたハイブリダイゼーション法による藍藻類付着細菌の解明 *1
2010	霞ヶ浦における <i>Microcystis</i> の増殖活性の履歴がbloom形成に及ぼす影響の解明
2011	藻類由来の有機炭素濃度の算出手法の開発(特異的プライマーを用いて)
2011～2015	戦略的環境アセスメント技術の開発と自然再生の評価に関する研究
2012～2014	rRNA/rDNA比を用いた富栄養湖霞ヶ浦におけるアオコの動態評価に関する研究 *1
2012～2021	藻類リソースの収集・保存・提供 *2
2018～2020	気候変動影響評価手法の高度化に関する研究

*1 文部科学省(日本学術振興会)科学研究補助金

*2 AMEDナショナルバイオリソースプロジェクト

本号で紹介した研究は、以下の機関、スタッフにより実施されました(所属は当時、敬称略、順不同)。

〈研究担当者〉

国立環境研究所：富岡典子、山口晴代、松重一夫、稲葉一穂、上野隆平、今井章雄、高村典子、越川昌美、岩崎一弘、小松一弘、高津文人、松崎慎一郎、中川恵、篠原隆一郎、霜鳥孝一、土屋健司、川崎伸之、佐藤貴之、福島路生、広木幹也、村田智吉、田辺雄彦、鈴木重勝、河地正伸

Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani (タイ王国)：Tuantong Jutagate、Piyathap Avakul

Faculty of Applied Science and Engineering, Khon Kaen University, Nong Khai (タイ王国)：Chatchai Preecha

Inland Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries, Bangkok (タイ王国)：

Pisit Phomikong

● 過去の環境儀から ●

これまでの環境儀から、シアノバクテリアや藻類の多様性に関するものを紹介します。

No.52 「アオコの有毒物質を探る —構造解析と分析法の開発」

アオコを形成する藍藻類の中には、有毒物質を産生する種類があり、種類によっては、強い毒性を持つことがわかってきました。幸い国内では、アオコの有毒物質による健康被害は発生していませんが、海外では、アオコが増殖した河川や池の水を利用したことが原因と推定される深刻な健康被害が報告されており、対策を求められています。本号では、アオコの有毒物質の一つであるミクロシスチンを中心に、国立環境研究所が行ってきた複雑なアオコの有毒物質の化学構造解析と分析手法の開発の歩みと意義について解説するとともに、研究の成果を紹介しています。

No.43 「藻類の系統保存 —微細藻類と絶滅が危惧される藻類」

藻類は光合成による有機物の生産者として地球上で重要な役割をはたしているほか、物質の循環や有用物質の生産などにも深くかかわっています。国立環境研究所の微生物系統保存施設 (NIES コレクション) では、藻類を収集し、培養株として系統保存しています。本号では、わが国の藻類保存プロジェクトの中核機関である NIES コレクションについて紹介しています。

No.37 「科学の目で見ると生物多様性 —空の目とミクロの目」

地球上では、多くの生き物や生態系が存続の危機に瀕しています。今、何を守る努力が必要か、具体的にどうしたら守れるのかを、データにもとづいて示すことが重要です。本号では、ミクロの目でせまる藻類の多様性の世界や、空からの撮影というマクロの目で迫る湿地生態系の空間的な構造の把握などの研究成果を紹介しています。

No.9 「湖沼のエコシステム —持続可能な利用と保全をめざして」

湖沼の富栄養化が進む中、湖沼環境を改善し、保全していくためには、生物間の相互作用を含めた湖沼生態系の構造と機能を理解し、活用していくことが必要です。本号では、湖沼の水質が魚の影響を強く受けていた事実を通して、湖沼における生物間の相互作用を明らかにするとともに、生態系を保全・管理しつつ湖沼利用を進めるための道を探っています。

環境儀 No.73

—国立環境研究所の研究情報誌—

2019年6月28日発行

編集 国立環境研究所編集分科会

(担当 WG: 岡寺智大、富岡典子、山口晴代、石垣智基、石濱史子、岩崎一弘、滝村朗、広兼克憲)

発行 国立研究開発法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

問合せ先 国立環境研究所情報企画室 pub@nies.go.jp

編集協力 有限会社サイテック・コミュニケーションズ

印刷製本 株式会社イセブ

無断転載を禁じます

「環境儀」既刊の紹介

No.27 2008年 1月	アレルギー性疾患への環境化学物質の影響	No.50 2013年 10月	環境多媒体モデル—大気・水・土壌をめぐる有害化学物質の可視化
No.28 2008年 4月	森の息づかいを測る—森林生態系のCO ₂ フラックス観測研究	No.51 2014年 1月	旅客機を使って大気を測る—国際線で世界をカバー
No.29 2008年 7月	ライダーネットワークの展開—東アジア地域のエアゾルの挙動解明を目指して	No.52 2014年 4月	アオコの有毒物質を探る—構造解析と分析法の開発
No.30 2008年 10月	河川生態系への人為的影響に関する評価—よりよい流域環境を未来に残す	No.53 2014年 6月	サンゴ礁の過去・現在・未来—環境変化との関わりから保全へ
No.31 2009年 1月	有害廃棄物の処理—アスベスト、PCB 処理の一翼を担う分析研究	No.54 2014年 9月	環境と人々の健康との関わりを探る—環境疫学
No.32 2009年 4月	熱中症の原因を探る—救急搬送データから見るその実態と将来予測	No.55 2014年 12月	未来につながる都市であるために—資源とエネルギーを有効利用するしくみ
No.33 2009年 7月	越境大気汚染の日本への影響—光化学オキシダント増加の謎	No.56 2015年 3月	大気環境中の化学物質の健康リスク評価—実験研究を環境行政につなげる
No.34 2010年 3月	セイリング型洋上風力発電システム構想—海を旅するウィンドファーム	No.57 2015年 6月	使用済み電気製品の国際資源循環—日本とアジアで目指す E-waste の適正管理
No.35 2010年 1月	環境負荷を低減する産業・生活排水の処理システム—低濃度有機性排水処理の「省」「創」エネ化〜	No.58 2015年 9月	被災地の環境再生をめざして—放射性物質による環境汚染からの回復研究
No.36 2010年 4月	日本低炭素社会シナリオ研究—2050年温室効果ガス70%削減への道筋	No.59 2015年 12月	未来に続く健康を守るために—環境化学物質の継世代影響とエピジェネティクス
No.37 2010年 7月	科学の目で見る生物多様性—空の目とミクロの目	No.60 2016年 3月	災害からの復興が未来の環境創造につながるまちづくりを目指して—福島発の社会システムイノベーション
No.38 2010年 10月	バイオアッセイによって環境をはかる—持続可能な生態系を目指して	No.61 2016年 6月	「適応」で拓く新時代!—気候変動による影響に備える
No.39 2011年 1月	「シリカ欠損説」と海域生態系の変質—フェリーを利用してそれらの因果関係を探る	No.62 2016年 9月	地球環境 100年モニタリング—波照間と落石岬での大気質監視
No.40 2011年 3月	VOCと地球環境—大気中揮発性有機化合物の実態解明を目指して	No.63 2016年 12月	「世界の屋根」から地球温暖化を探る—青海・チベット草原の炭素収支
No.41 2011年 7月	宇宙から地球の息吹を探る—炭素循環の解明を目指して	No.64 2017年 3月	PM _{2.5} の観測とシミュレーション—天気予報のように信頼できる予測を目指して
No.42 2011年 10月	環境研究 for Asia/in Asia/with Asia —持続可能なアジアに向けて	No.65 2017年 6月	化学物質の正確なヒト健康への影響評価を目指して—新しい発達神経毒性試験法の開発
No.43 2012年 1月	藻類の系統保存—微細藻類と絶滅が危惧される藻類	No.66 2017年 9月	土壌は温暖化を加速するのか?—アジアの森林土壌が握る膨大な炭素の将来
No.44 2012年 4月	試験管内生命で環境汚染を視る—環境毒性の <i>in vitro</i> バイオアッセイ	No.67 2017年 12月	遺伝子から植物のストレスにせまる—オゾンに対する植物の応答機構の解明
No.45 2012年 7月	干潟の生き物のはたらきを探る—浅海域の環境変動が生物に及ぼす影響	No.68 2018年 3月	スモッグの正体を追いかける—VOCからエアロゾルまで
No.46 2012年 10月	ナノ粒子・ナノマテリアルの生体への影響—分子サイズにまで小さくなった超微小粒子と生体との反応	No.69 2018年 6月	宇宙と地上から温室効果ガスを捉える—太陽光による高精度観測への挑戦
No.47 2013年 1月	化学物質の形から毒性を予測する—計算化学によるアプローチ	No.70 2018年 9月	和風スマートシティづくりを目指して
No.48 2013年 4月	環境スベシメンバニング—環境の今を封じ込め未来に伝えるパトナリレー	No.71 2018年 12月	人口分布と環境—コンパクトなまちづくり
No.49 2013年 7月	東日本大震災—環境研究者はいかに取り組むか	No.72 2019年 4月	うみの見張り番—植物プランクトンを使った海洋開発現場の水質監視

●環境儀のバックナンバーは、国立環境研究所のホームページでご覧になれます。
<http://www.nies.go.jp/kanko/kankyogi/index.html>

「環境儀」



地球儀が地球上の自分の位置を知るための道具であるように、「環境儀」という命名には、われわれを取り巻く多様な環境問題の中で、われわれは今どこに位置するのか、どこに向かおうとしているのか、それを明確に指し示すべしという意図が込められています。「環境儀」に正確な地図・行路を書き込んでいくことが、環境研究に携わる者の任務であると考えています。

2001年7月 合志 陽一
 (環境儀第1号「発刊に当たって」より抜粋)



このロゴマークは国立環境研究所の英語文字 N.I.E.S で構成されています。N=波(大気と水)、I=木(生命)、E=Sで構成される○で地球(世界)を表現しています。ロゴマーク全体が風を切った左側に進むようにする動きは、研究所の躍動性・進歩・向上・発展を表現しています。

リサイクル適性 (A)

この印刷物は、印刷用の紙へリサイクルできます。