

発表番号 25 (0517)

白潮原因藻の増殖制御因子セレンの代謝生理学的解析に基づく ブルーム成因の解明

白岩 善博 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)

鈴木 石根 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)

海洋において「白潮」とよばれる広範囲なブルームを形成する円石藻の増殖制御要因を明らかにし、漁業被害等をもたらす沿岸海域でのブルーム発生を抑制するための生理学的基礎知見を得ることを目的とした。そのため、我々が既に見出した微量元素セレンの必須性に焦点を当て、「なぜ円石藻はセレンを必要とするのか」、「円石藻はセレンをどの様に吸収し利用するのか」の解明に取り組んだ。ハプト植物門エミリアニアおよびゲフィロカプサの円石形成種 2 種(円石藻)および円石形成能を有しない近縁種イソクリシスを用いた。

イソクリシスは、セレンを必須元素とせず、円石形成能を有する 2 種の円石藻とは大きく異なっていた。3 種のハプト藻による放射性亜セレン酸吸収の速度論的解析の結果、エミリアニア細胞は飽和成分と直線成分の 2 成分からなっており、エネルギー及び濃度依存的な亜セレン酸吸収を証明した。また、エミリアニアとゲフィロカプサでは、タンパク質画分へのセレンの取り込みは早く飽和し、低分子セレン化合物の合成が増大した。

^{75}Se -亜セレン酸を基質とした場合、イソクリシスが生産する ^{75}Se ラベル低分子化合物はたった 1 種類であった。一方、エミリアニアとゲフィロカプサでは 5 種類の ^{75}Se ラベル低分子化合物が見出した。そして、その中に $\text{Se-methyl selenocysteine}$ を見出した。この化合物は、

陸上植物におけるセレンの解毒代謝系の中間代謝産物である。したがって、エミリアニアとゲフィロカプサが陸上植物型のセレン代謝系を有することが分かった。3 種のハプト藻が生産したセレンラベルタンパク質を可溶性画分と不溶性画分に分離し、それぞれを SDS-PAGE で分析した。その結果、イソクリシスのラベルパターンには他の 2 種のそれとは明らかに異なり、種特異的なセレノプロテイン合成の可能性が示唆された。一方、イソクリシスでは非特異的なセレンラベルタンパク質の存在を示唆した。

最もブルーム形成能が高いエミリアニアはエネルギー依存的な能動輸送系と直線的濃度依存性を示す受動的吸収系の 2 種類の亜セレン酸吸収機構を有することを明らかにした。一方、ゲフィロカプサとイソクリシスでは、亜セレン酸吸収のキネティクスからエネルギー依存的な吸収系のみが機能することを明確にした。エミリアニアの受動的な亜セレン酸吸収機構は、海洋において、セレン濃度の上昇が見られた場合、その濃度に依存してその吸収量を増大させるために有効である。したがって、降雨による陸からのセレンの供給や沈降に伴うセレン濃度の高い深部への移動によるセレン供給の増大がエミリアニアのセレン利用を増大させ、細胞増殖の増大を引き起こす可能性が考えられる。

助成番号 0517

白潮原因藻の増殖制御因子セレンの代謝生理学的解析に基づく ブルーム成因の解明

白岩 善博 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)

鈴木 石根 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)

1. 研究目的

海洋において「白潮」とよばれる広範囲なブルームを形成する円石藻の増殖制御要因を明らかにし、漁業被害をもたらす沿岸海域でのブルーム発生を抑制するための生理学的基礎知見を得ることを目的とした。そのため、我々が既に見出した微量元素セレンの円石藻増殖に対する必須性(Danbara & Shiraiwa 1999)に焦点を当て、「なぜ円石藻はセレンを必要とするのか」、「円石藻はセレンをどの様に吸収し利用するのか」の解明に取り組んだ。そして、それらの成果を元に、海洋における円石藻ブルームの成因について考察する。

2. 研究の背景

円石藻はハプト植物門に属する単細胞藻類である。炭酸カルシウムを主成分とする特別な細胞殻(円石と呼ぶ)を有することを最大の特徴とする。また、円石藻は海洋で巨大なバイオマスを占める。中でも最も存在量が多く円石藻の代表種の一つとされている *Emiliania huxleyi* は、外洋でブルームと呼ばれる爆発的な増殖を引き起こす。その状況はリモートセンシングによって観察され、衛星画像として公開されている。これらの円石藻のブルームは、北大西洋では古くから観察された(Robertson et al. 1994)。さらに、北太平洋でも、ベーリング海では1997年以降、毎年数ヶ月にわたる円石藻ブルームが観測されている(Hunt et al. 1999)。*E. huxleyi* は、形成するCaCO₃結晶体(円石)の量が莫大であるため、地球規模の炭素循環に影響を与えたとみられている。日本沿岸域においては円石藻が大増殖し海を白濁化させ、漁業被害をもたらすため赤潮と区別して「白潮」と呼ばれている。これは別種の *Gephyrocapsa oceanica* で、主に太平洋で生育している種であることが分かっている。

海洋には約1 nMのセレンが存在している。我々は、既に高濃度セレン(μMレベル)が毒性を示す一方、海水レベルと同程度の低濃度セレン(nMレベル)は円石藻の増殖に必須であり、その化学型は亜セレン酸イオン(IV)であることを明らかにした(Danbara & Shiraiwa 1999)。さらに、代表種 *E. huxleyi* においてセレンの摂取・蓄積機

構を解析し、エネルギー依存の能動的輸送系と濃度依存的な受動的吸収系の双方が機能していることを示した(Obata et al. 2004)。また、*E. huxleyi* においては新規のセレン含有タンパク質を発見し、一部のタンパク質(EhSEP2)についてその分子特性を明らかにした(Obata & Shiraiwa 2005)。セレンの必須性は、陸上植物にはほとんど見られず、哺乳類特有の性質のように考えられてきたが、我々の研究により藻類でもセレンの必須性が明らかになった。しかし、円石藻類におけるセレンの代謝機構についてはまだ多くの不明な点が多く残っている。従って、白潮原因藻によるブルーム成因の解析のためには、さらなるセレンの代謝機構の解明が不可欠である。

本研究では、まず、細胞内セレン化合物を同定していくことでセレンの細胞内動態の解明を試みた。そして、細胞内セレン代謝系を明らかにしセレン化合物特有の無毒化→蓄積→セレン再利用などの代謝反応を見出すことによって、白潮原因藻によるセレン利用に基づく主要な増殖制御系の存在を明らかにすることを意図した。さらには、他種の赤潮原因藻類等がセレンを増殖制御因子として利用するか否かを調査することで、ブルームや赤潮発生メカニズムとセレンとの関連を調べた。

3. 研究方法

3.1 生物材料

生物材料として、エミリアニア *Emiliania huxleyi* (NIES837; グレートバリアリーフ、オーストラリアにて採取; 1990年) およびゲフィロカプサ *Gephyrocapsa oceanica* (NIES838; 陸奥湾、青森にて採取; 1990年)の円石形成種2種(円石藻)および円石形成能を有しない近縁種イソクリシス *Isocrysis aff. galbana* T-Iso (UTEX LB 2307)を用いた。これらはいずれもハプト植物門に分類され、進化系統的に近縁であるとされている。*E. huxleyi* は外洋種で、特に高緯度海域においてブルームを形成する。

G. oceanica は、沿岸性種で中緯度太平洋における優占種である。日本近海、特に遠州灘、相模湾、東京湾などにおいてブルームを発生させている。

3.2 生物培養

保存培養は、天然海水(NS)に栄養塩添加培地としてESM培地(Okaichi et al. 1982)及び終濃度 10 nMの亜セレン酸ナトリウムを添加し、強化したNS-ESM培地を用いた。本実験に用いた3種は、100 mL容三角フラスコ中に入れたNS+ESM培地(50 mL)に植え継ぎ、静置培養を行った。培養条件は、20°Cおよび16時間明/8時間暗期の明暗サイクル下で、明期の光強度 20~30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に設定して実施した。

実験用細胞の培養には、人工海水 Marine art SF-1 (MA; 富田製薬製造、千寿製薬を経て現在大阪薬研(株)で販売中)に、ESM培地(土壌抽出液の代わりに終濃度 10 nMの亜セレン酸ナトリウムを添加)を加えた培地(MA+ESM) (Danbara & Shiraiwa 1999)を用いた。培養は、500 mLの新鮮MA-ESM培地に25 mLの保存培養細胞懸濁液を添加し、500 mL容扁平培養瓶(藤本理化、東京)で、フィルター(ポアサイズ 0.2 μm , ザルトリウス、ドイツ)を通し無菌化した通常空気を流速 100 mL min^{-1} で通気しながら行った。条件は、100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度で連続光照射し、温度は20°Cとした。

一週間培養後、遠心(20°C, 600 \times g, 10分)により細胞を回収し、亜セレン酸ナトリウムを添加していない培地(MA+ESM(-Se))に再懸濁した。遠心による細胞への傷害の影響を除くため、100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度で連続光照射下、20°Cで約1日間、静置培養を行った後、分注し、実験に使用した。

3.3 放射性セレン(^{75}Se)によるラベル実験

生育培地に放射性(^{75}Se)亜セレン酸ナトリウムを添加し、培養した。経時的に細胞懸濁液(10 mL)を採取し、2 mL容マイクロチューブ5本に分注した。それぞれ終濃度 0.01%となるように Tween 20を加え、遠心(4°C, 800 \times g, 5分)した。上清を捨て、それぞれに 500 μL のMA+ESM(-Se)と Tween 20(終濃度 0.01%)を添加し、再び遠心(4°C, 800 \times g, 5分)を行うことにより、細胞外に残存した放射性同位体を洗浄・除去した。回収した細胞それぞれにクロロフォルム(CHCl_3): メタノール(MeOH) (2 : 1)を200 μL ずつ加え、5本のマイクロチューブ中の試料を1本のマイクロチューブにまとめ、遠心(4°C, 18,000 \times g, 30分)した。沈殿物を、500 μL の CHCl_3 : MeOH (2 : 1)で洗浄し、遠心(4°C, 18,000 \times g, 30分)した。第1回目の遠心上清(1 mL)と2回目の遠心上清(500 μL)を1本のマイクロチューブにまとめて Fraction A (1.5 mL)とし、第2回目の洗浄後の沈殿物を Fraction Bとした。

Fraction A (300 μL)を取り γ 線カウンターで放射活性を測定した。残りの Fraction A に 0.88% KCl (300 μL)を加

えて混合した後、遠心により2層に分離させた。その上層を Fraction C、下層を Fraction Dとした。

Fraction B に、5% トリクロロ酢酸(500 μL)を加え、30分煮沸したのち遠心(4°C, 18,000 \times g, 30分)し、その上清を Fraction E、そして沈殿物を Fraction Fとした。Fraction Cには、低分子化合物が主に存在するためそれを低分子画分とし、Fraction Dには主に脂質、Fraction Eには多糖・核酸、Fraction Fにはタンパク質が主に存在するので、それぞれを脂質画分、多糖・核酸画分、タンパク質画分とした。

細胞内化合物の分画によって得られた低分子画分(Fraction C)を薄層クロマトグラフィープレート(Keisegel 60 F254, 20cm \times 20cm, MERCK)にスポットし、展開した。1次元展開の溶媒は、フェノール溶媒(88%(w/w) Phenol 16.62 mL, 脱イオン水 3.08 mL, 氷酢酸 0.20 mL, 0.2 M EDTA 0.10 mL)を用いた。2次元展開の溶媒としては、ブタノール・プロピオン酸溶媒(ブタノール 9.25 mL, プロピオン酸 4.5 mL, 脱イオン水 5.25 mL)を用いた。マーカーとして Orange I(オレンジマーカー)及び Ponceau R(レッドマーカー)を用いた。展開終了後 TLCプレートを充分乾燥させ、ラップで覆い、イメージングプレート(IP)に数時間露光した後、BAS(BAS-1800 II、富士写真フイルム)により放射性のスポットを検出した。放射性スポットを検出後、TLCプレートに 0.2% ニンヒドリンを含む 100% アセトン溶液をスプレーし、オープンで 110°C、3~5分間加熱することによりアミノ酸を発色させ検出した。

4. 研究結果

円石を有しないハプト藻イソクリシスのセレン要求性について調べた(Fig. 1)。亜セレン酸を含まない培地(MA+ESM(-Se))でイソクリシス細胞を15日間培養した細胞(first Se-free culture)を、種々の濃度の亜セレン酸を含むMA+ESM培地へ植え継ぎ、増殖の経時変化を調べ増殖速度を測定した(second culture)。さらに、亜セレン酸を含まない培地で増殖した second Se-free culture細胞を、種々の濃度の亜セレン酸を含むMA+ESM培地へ植え継ぎ、さらに増殖の経時変化を調べ増殖速度を測定した(third culture)。イソクリシス細胞はセレンを含まない培地でも増殖でき、それは2回の継代培養を経ても同様であった。亜セレン酸濃度が0~10 μM の範囲ではイソクリシスの増殖速度は全く同じで、100 μM にまで上昇させた場合にのみ増殖阻害効果が顕著に見られた。したがって、イソクリシス細胞はその増殖にセレンを必要とせず、円石形成能を有する2種の円石藻とは大きく異なっていた。

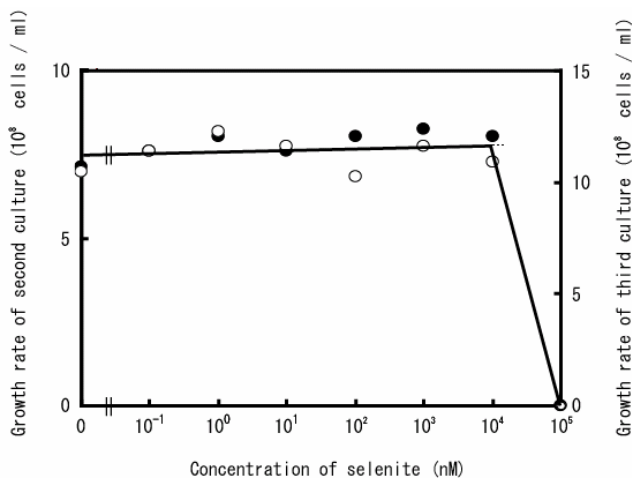


Fig. 1 Relationship between the growth rate of *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso and the concentration of selenite in the medium.

○, Growth rate of cells transferred from the first Se-free culture for 15 days under various selenite concentrations. ●, Growth rate of cells transferred from the second Se-free culture grown for another 15 days.

シリコンオイルレイヤー遠心法を用いて、3種のハプト藻による亜セレン酸吸収の速度論的解析を行った (Fig. 2)。最大吸収速度はイソクリシスにおいて最も大きく、ゲフィロカプサの2倍程度の値を示した。しかし、これら2種がほぼ飽和曲線型のキネティクス曲線を示したのに対し、エミリアニアにおいては飽和曲線と濃度依存的に増加する直線的成分の2成分から成る総合的な吸収曲線を示した。これらの結果は、エミリアニアが他とは異なる特徴的な亜セレン酸吸収機構を有することを意味する。すなわち、ゲフィロカプサやイソクリシスがほぼ 50 nM 亜セレン酸濃度で飽和に達し、それ以上に亜セレン酸濃度が上昇しても亜セレン酸の吸収を増加させることはない。それに対し、エミリアニア細胞は海水中の亜セレン酸濃度が 100 nM を超えて増加した場合でも、濃度依存的に亜セレン酸を吸収したことから、それらの濃度の亜セレン酸を有効に吸収し、細胞の増殖に役立てることが出来ることを示している。

3種のハプト藻の増殖過程で放射性亜セレン酸イオン ($^{75}\text{SeO}_3^{2-}$) を添加して5日間培養した。イソクリシスの増殖速度は、エミリアニアおよびゲフィロカプサの約2倍程度高い値を示した (Fig. 3)。一定時間毎に細胞を採取し、低分子化合物画分とタンパク質画分に分画し、それぞれの画分に取り込まれた放射エネルギーを定量した (Fig. 4)。細胞当たりの総取り込み量はイソクリシスにおいて最も大き

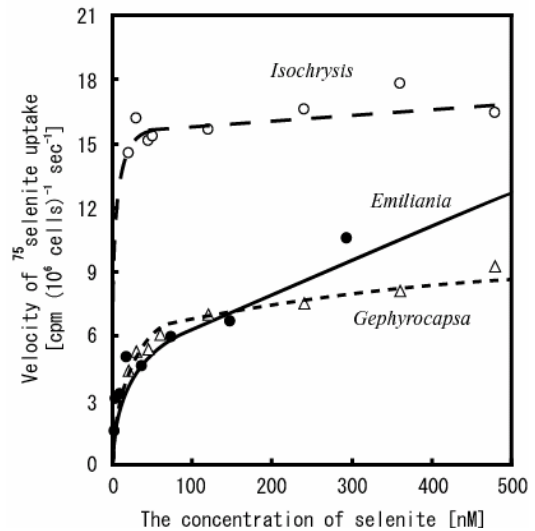


Fig. 2 Kinetic curve of the transport of ^{75}Se -selenite in three species of haptophyte algae, *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso, *Emiliana huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica*.

The uptake rate was determined from the 30s-experiments. ○, *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso; ●, *Emiliana huxleyi*; △, *Gephyrocapsa oceanica*.

く他の2種の約5倍の活性を示した。また、イソクリシスでは低分子画分とタンパク質画分への放射性セレンの取り込み量はほぼ同じで、経時変化も同様であった。

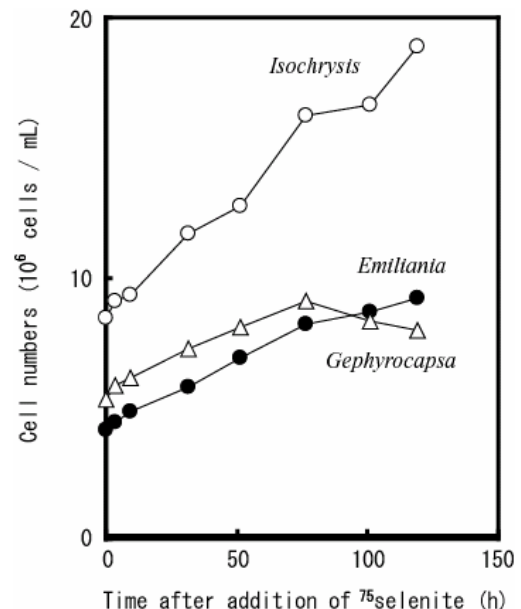


Fig. 3 Growth curve of three species of haptophyte algae, *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso, *Emiliana huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica* in selenite-containing culture medium.

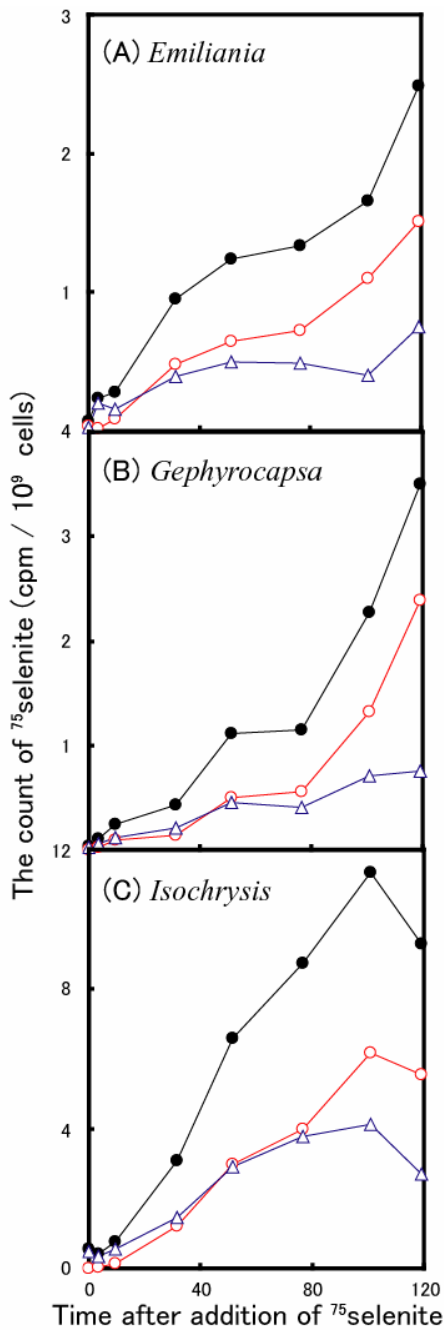


Fig. 4 Time courses of the incorporation of ^{75}Se -selenite into various compounds of cells.

●, total ^{75}Se -incorporation into cells; ○, low-molecular compounds; △, proteins

一方、エミリアニアとゲフィロカプサでは、タンパク質画分へのセレンの取り込みは比較的早く飽和し、低分子化合物へのセレンの取り込みが時間とともに増大する傾向が見られた。

それぞれの藻種において、 ^{75}Se ラベルされた低分子化合物を TLC で分析した (Fig. 5)。その結果、イソクリシスが生産する ^{75}Se ラベル低分子化合物はたった1種類であ

った。一方、エミリアニアとゲフィロカプサでは複数の ^{75}Se ラベル低分子化合物の存在が示され、両種における化合物の種類はほぼ同じであることが分かった。そして、化合物同定の結果、その中には、低分子セレン化合物の1種である Se-methyl selenocysteine が含まれることを明らかにした。この化合物は、陸上植物におけるセレンの解毒作用をもたらす細胞内代謝系の中間代謝産物として知られている。したがって、本結果は、エミリアニアとゲフィロカプサが陸上植物型のセレン代謝系を有することを証明したものと考えられる。TLC 上のスポットの状況から、イソクリシスが生産したセレン化合物は、他の2種には存在しないものと判断できた。これらの結果は、イソクリシスの代謝が他の2種の円石形成種とは全く異なるセレン代謝系を有することを示したものである。

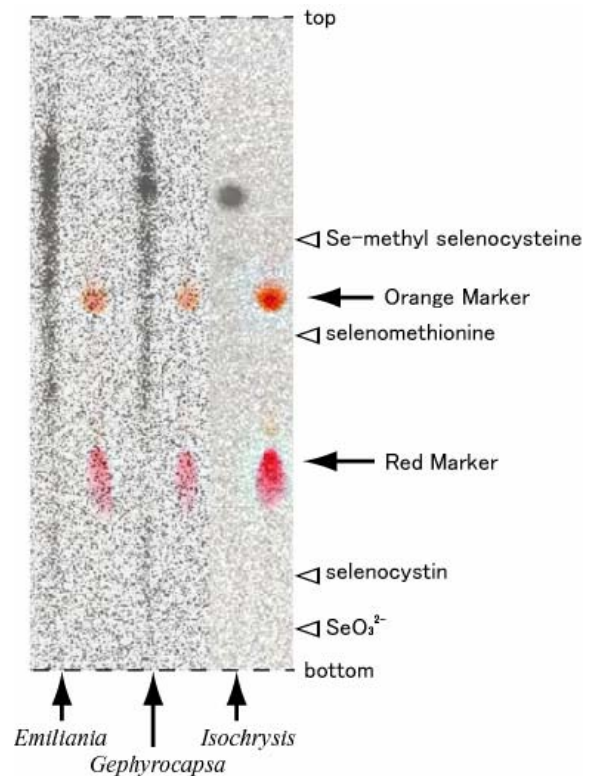


Fig. 5 Radioluminograph of the TLC analysis of ^{75}Se -labeled low-molecular compounds obtained from cells of *Emiliana huxleyi*, *Gephyrocapsa oceanica* and *Isochrysis aff. galbana* T-Iso that had been grown in the medium with $^{75}[\text{Se}]$ selenite.

3種のハプト藻が生産したセレンラベルタンパク質の分析を SDS-PAGE とラジオリミノグラフィー法を用いて行った (Fig. 6)。タンパク質画分を可溶性画分と不溶性画分に分離し、それぞれを SDS-PAGE の試料とした。Fig. 6(A)において、3種の構成タンパク質には、それほど大き

な違いは見いだせなかった。しかし、Fig. 6(B)の放射性セレンでラベルされたタンパク質バンドには、大きな違いが見いだされた。すなわち、エミリアニアとゲフィロカプサには本質的違いは見いだせなかったが、イソクリシスのラベルパターンには他の2種のそれとは明らかに異なるラベルパターンが見られた。すなわち、エミリアニアとゲフィロカプサのラベルは特異的なセレンプロテインの合成の可能性を示し、イソクリシスのそれは、蛋白質質量に相関する点で、非特異的なセレンラベルタンパク質の存在を示唆するものであった。

5. 考 察

ハプト藻3種のセレン利用機構、亜セレン酸吸収速度および細胞が合成するセレン化合物の分析を行った。その結果、最もブルーム形成能が高いエミリアニアが特徴的な亜セレン酸吸収機構を有することを明らかにした。すなわち、それはエネルギー依存的な能動輸送系と直線的濃度依存性を示す受動的吸収系の2種類の亜セレン酸吸収機構である。これらの結果は、Obata et al. (2004)の結果と一致するものである。本研究において、さらにゲフィロカプサとイソクリシスにおいて、その亜セレン酸吸収のキネティクスからエネルギー依存的な吸収系のみが存在が明らかとなり、種による違いが明確になった。エミリアニアにおけるこの濃度依存的な亜セレン酸吸収機構は、海洋において、セレン濃度の上昇が見られた場合、その濃度に依存してその吸収量を増大させるために有効で

ある。したがって、降雨による陸からのセレンの供給や沈降に伴うセレン濃度の高い深部への移動によるセレン供給の増大がエミリアニアのセレン利用を増大させ、細胞増殖の増大を引き起こす可能性が考えられる。

ゲフィロカプサもまた海洋におけるブルーム形成種ではあるが、エミリアニアと比較すれば局部的なブルームを日本近海及び沿岸域で形成する。この違いが、亜セレン酸吸収系の違いによってのみ説明することは現時点では困難である。しかし、低分子セレン化合物の代謝やセレン含有タンパク質の合成パターンがエミリアニアとゲフィロカプサでは非常に類似している。セレンの要求性を有せず増殖速度も高いイソクリシスがブルーム形成種ではないことを考慮すると、エミリアニアやゲフィロカプサにおけるセレン利用の特徴がブルーム形成能と密接に関わっている可能性も否定できない。

円石形成能を有しないイソクリシスはその増殖にセレンの必須性を有しないことを本研究で明らかにした。元来増殖速度が高いイソクリシスは、セレンを吸収するが、それを特異的にセレン含有タンパク質合成などの為に積極的に利用している可能性は示されなかった。細胞内におけるセレン含有低分子化合物も僅か1種のみで、複雑な細胞内セレン代謝系の存在は考えにくい。しかし、セレンを取り込んで細胞内に蓄積する能力は高いと判断できる。そのため、唯一細胞内に見出された低分子セレン化合物がタンパク質への非特異的なセレン付加の要因となっている可能性もある。

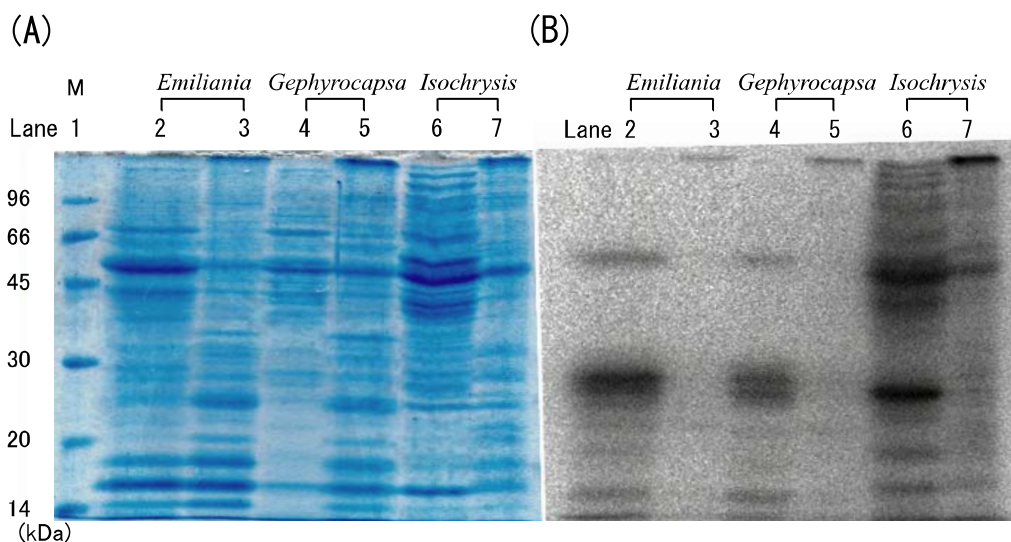


Fig. 6 Radioluminograph of SDS-PAGE of ^{75}Se -labeled proteins isolated from cells of *Emiliana huxleyi*, *Gephyrocapsa oceanica* and *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso that had been grown in the medium with $^{75}\text{[Se]}$ selenite.

(A), stained with CBB; (B), radioluminogram. Lane 1, low-molecular protein markers; Lane 2, 4 and 6, solubles; Lanes 3, 5 and 7, insolubles.

ハプト藻においては、円石形成能と増殖速度には負の相関があるとの知見が一般的である(Shiraiwa 2003, Paasche 2004)。しかしながら、円石を形成しないハプト藻のブルームが観察されたとの報告はない。これらの知見と本研究結果を総合的に考察すれば、海洋における円石藻の増殖の要因としてセレンの果たす役割が重要である可能性は大きい。

6. 今後の課題

円石藻 3 種が合成する低分子セレン化合物の同定によるそれぞれの種におけるセレン代謝系の解明が不可欠である。本研究結果は、セレン代謝に関して明確な種特異性を示している。さらに、セレン含有タンパク質の同定も不可欠である。特に、エミリアニア/ゲフィロカプサと比較した場合、イソクリシスにおける放射性セレンによるタンパク質のラベルパターンは、全く異なっていた。したがって、その代謝系の違いを明らかにすることによって、セレンがいかなるメカニズムによって円石藻の増殖を制御するかの解明に繋がると期待される。特にいかなる要因が沿岸域における白潮の発生をもたらすか、または消滅させるかについて、その原因を解明することが重要である。沿岸域の特徴として、陸域からの栄養分供給や、淡水の流入による塩濃度の低下の相乗効果によるセレン利用

系の変化が増殖を制御している可能性もある。したがって、フィールドにおける微量元素濃度の変化に関する観測データを解析し、本研究で行った生理学的実験結果と合わせることによって、海洋における白潮ブルームの成因を解明していくことが必要である。

文 献

- Danbara, A. and Shiraiwa, Y. (1999) *Plant Cell Physiol.* 40: 762-756.
- Hunt, Jr. G.L., Bauini, C.L., Brodeur, R.D., Coyle, K.O., Kachel, N.B., Napp, J.M., Salo, S.A., Schumacher, J.D., Stabeno, P.J., Stockwell, D.A., Whitley, T.E., and Zeeman, S.L. (1999) *EOS* 47: 564-566.
- Obata, T., Araie, H. and Shiraiwa, Y. (2004) *Plant Cell Physiol.* 45: 1434-1441.
- Obata, T. and Shiraiwa, Y. (2005) *J. Biol. Chem.* 280: 18462-18468.
- Paasche, E. (2002) *Phycologia* 40: 503-529.
- Robertson, J.E., Robinson, C., Turner, D.R., Holligan, T.P., Watson, A.J. Boyd, P., Fernandez, E. and Finch, M. (1994) *Deep-Sea Res.* 41: 297-314.
- Shiraiwa, Y. (2003) *Comp. Biochem. Physiol. B* 136: 775-783.

0517

Study on metabolism and physiological functions of selenium which regulates the growth of white water bloom-forming marine algae

Yoshihiro Shiraiwa, Iwane Suzuki
Graduate School of Life and Environmental Sciences,
University of Tsukuba

Summary

We intended to study on how the growth of bloom-forming coccolithophorids is regulated in marine environment. In our previous study, we found that coccolithophorids such as *Emiliana huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica* essentially require selenium for their growth. In this study we tried to compare the response to selenium, kinetics of Se-transport and Se-metabolites among three species of haptophyte algae. Those algae are coccolith-producing species such as *Emiliana huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica*, and non-coccolith-producing species such as *Isochrysis galbana*.

Isochrysis showed no requirement of Se for its growth but absorbs Se to produce a single low-molecular compound. Proteins were labeled with ^{75}Se non-specifically in both soluble and insoluble fractions. ^{75}Se -labeling of proteins in *Isochrysis* increased with time and did not saturate. On the other hand, ^{75}Se was incorporated into proteins specifically in bloom-forming. Those patterns were largely different from Se-metabolism of *Emiliana* and *Gephyrocapsa*. In these two species Se-methyl-selenocysteine was identified in the low-molecular compounds that may function of detoxification process of selenium in the cells.

The present study showed that Se is a possible candidate of bloom-regulation element for *Emiliana*. *Emiliana* is able to utilize selenite ion at wide range, since kinetic curve shows that the transport is mediated by both an energy-dependent active process and a passive process. Thus, the bloom of *Emiliana* can be regulated by the change in selenite ion concentration in the ocean. Selenium can be supplied from the land via river and upwelling from the deep ocean.