

2010(平成 22)年度実績報告書 環境生態学部門長 浅枝 隆

I. 本年度の活動の概要

2009 年度は、センター創設間もないこともあって、部門参加者のウォーミングアップやお互いの研究の摺り合わせを主に行ってきたが、十分でなかった部分においては、2010 年度においてもこれを継続した。しかし、他方、シアノバクテリアの研究など、部門構成員の多くが関わっている研究分野においては、実際の部門としても活動を行った。部門に関する研究活動の詳細は II に記すが、湖沼のシアノバクテリアの臭気物質発生機構の解明のように、外部から高い期待をされているものもある。

本年度の部門構成員の研究活動の実績は、III に示されるが、SCI ジャーナル掲載論文数 81、センター発足以後掲載された論文の引用回数は 71 回となっている。

大学全体の数はそれぞれ 656 編（2009 年 358 編、2010 年 298 編）、および 762 回（2009 年 134 回、2010 年 628 回）であることから、部門構成員でこれに占める割合は 12%、一方、部門構成員が大学内で論文執筆に対する貢献度が高いと考えられる理工学研究科構成員に占める割合は 5.2%である。これは、本部門の活動は大学内で際立ったものであることを示している。

こうした結果として、本部門の構成員によって、既に、2011 年度以降の大型外部資金として、最先端・次世代研究開発支援プログラムおよび J S T 戦略的創造研究推進事業（さがけ）が獲得されており、大学内で他に類を見ない結果といえる。

II. 研究活動の概要

（1）シアノバクテリアに関する研究

1) 湖沼のカビ臭発生シアノバクテリアの特定と発生機構の解明

担当者 川合真紀、浅枝 隆

湖沼に発生する一部のシアノバクテリア（フォルミディウム等）はカビ臭の生成物質 2MIB を発生する。しかし、その機構は十分解明されているわけではなく、世界中で問題を生じている。本部門では、2MIB を発生する種の特性、遺伝子の解明を進める。

2MIB を産出するシアノバクテリアの一種として、国立環境研究所より 512 株をとりよせ、無菌培養を開始した。植え継ぎ後に経時的にサンプリングした細胞を用いて、ガスクロマトグラフィー質量分析装置により 2MIB の産出を確認した。また、2MIB の産出にかかわると考えられる代謝酵素遺伝子の一部分をクローニングすることに成功した。この情報を基に、2MIB 産出菌の存在をモニターする PCR プライマーの設計に取り込むことが可能になった。

毎年 2MIB の発生が確認されている渡良瀬貯水池に出現するシアノバクテリアの詳細な同定を行い、2MIB の発生に関わっていたのは、従来いわれていたようにフォルミディウムではなく、他のいくつかの種であることを確認した。これによって、同貯水池で行われているカビ臭対策としての干し上げの理論的根拠を得る筋道ができあがった。

2) 生物のストレス応答機構に関する研究、熱ショックタンパク質（分子シャペロン）の機能

及び発現調節に関する生化学的・分子生物学研究

担当者 仲本 準

2009 年度においては、我々は、大腸菌や枯草菌などの従属栄養細菌とは異なり、シアノバクテリア（藍藻）の熱ショックタンパク質（Hsp）遺伝子を破壊（あるいは大量発現）すると、変異株に著しいストレス感受性（あるいはストレス耐性）が生じることを明らかにした。これは、独立栄養生物のストレス耐性あるいは環境応答において、Hsp が重要な働きをすることを示唆するものであるが、その分子機構は解明されていない。

本研究では、代表的な Hsp（あるいは分子シャペロン）の一つである Hsp90 が、他の Hsp と共同で、シグナル伝達分子を含む多様な基質タンパク質と特異的に相互作用し、それらの機能や安定性を調節することで環境応答における重要な働きをするという作業仮説をたて、これを実験的に検証することを目的とした。2009 度は、Hsp90（HtpG）が、Hsp40（DnaJ）や Hsp70（DnaK）と物理的に相互作用することを、酵母ツーハイブリッド法、プルダウン法、免疫沈降法等で、明らかにした。

2010 年度は、2009 年度に引き続き、さらに発展させた。HtpG が、DnaJ や DnaK と物理的に相互作用し、（HtpG に結合した）基質タンパク質は DnaK / DnaJ /ヌクレオチド交換因子（GrpE）シャペロン系に移動し、フォールディングすること、さらに HtpG は DnaK のシャペロン機能を調節することを明らかにした。

Hsp60（原核生物では GroEL と呼ばれる）も代表的な Hsp の一つである。大腸菌等の従属栄養生物とは異なり、ほとんどのシアノバクテリアには、二種類の GroEL が存在するが、なぜ二種類の GroEL が存在するか不明である。我々は、一方の GroEL 遺伝子を破壊したが、このシアノバクテリア変異株は高温や強光等のストレスに対して感受性であった。この GroEL は、ストレス下で他方の GroEL では代替不可能な、重要な働きをすることが明らかになった。

（２） 植物生理に関する研究

3) 光化学系 I 複合体を形成するサブユニットの遺伝子に関する研究

担当者 日原由香子

光化学系 I 複合体を形成するサブユニットの遺伝子（以後、系 I 遺伝子と略す）は、*Synechocystis* sp. PCC 6803 では光強度に依存した統一的な制御を受けており、弱光下では豊富に蓄積している転写産物が、強光下に移すと 1 時間以内に完全に消失するほどの発現抑制が観察される。我々は、系 I 遺伝子の強光応答に必要な共通領域として、コアプロモーター領域直上流の AT リッチ領域をすでに同定しているが、本研究では、この AT リッチ領域内に、HLR1 配列と呼ばれる共通配列が含まれており、ここにレスポンスレギュレータータンパク質 RpaB が結合することを見出した。レポーター解析の結果から、RpaB は弱光下で系 I 遺伝子のアクチベーターとして働いていることが示唆された。これまで、RpaB は弱光下でのリプレッサーとして報告されており、アクチベーターとしての報告は本研究が初めてである。

Synechocystis sp. PCC 6803 の光化学系 I 複合体が、強光下で減少するときに、どのような調節が働いているのかに迫った。クロロフィル合成活性の調節が光化学系 I 量の調節に重要であることや、調節因子 PmgA が、系 I 反応中心サブユニットをコードする *psaAB* の転写産物量と、アミノレブリン酸合成活性の両方の、強光下での抑制に関与していることなどが示唆された。

化学系 I 反応中心サブユニットをコードする *psaAB* 遺伝子上流域に 4 か所存在する HLR1 配列（系 I 遺伝子の統一的な強光応答に必要な共通配列）に着目し、個々の HLR1 配列を塩基置換した場合のプロモーター活性への影響を調べると同時に下流プロモーターの -10 配列を置換して *psaAB* 遺伝子の二つのプロモーターの活性を個別に調べた。その結果、弱光下で、3 か所の HLR1 配列が二つのプロモーターに正負様々な影響を及ぼしていること、強光下で、二つのプロモーターを共通に抑制する領域が存在すること等を見出した。

Synechocystis sp. PCC 6803 において、光合成電子伝達活性依存的な調節に働く転写因子 PedR と相互作用する因子の探索を行ったところ、チオレドキシンが同定された。強光条件下で、光合成電子伝達鎖からの還元力をチオレドキシンが受け取り、それを PedR に伝えることにより（PedR シス테인残基のジスルフィド結合を還元することにより）、PedR が一過的に不活化され、その標的遺伝子の発現レベルが変化すると推測された。

4) コケ植物の環境ストレス応答と脱水耐性機構の解明

担当者 竹澤大輔

2009 年度は、「コケ植物の環境ストレス応答と脱水耐性機構の解明」に関し、遺伝子破壊技術やホルモン非応答変異株の解析によってストレス応答に関わる分子機構の解明した。

2010 年度はそれに引き続き、Cryo-SEM を用い、コケ原糸体細胞の細胞内構造を明らかにする。（環境生態学部門・金子康子教授との共同研究）

（3）地球、日本、埼玉の生態環境問題に関する研究

5) 二酸化炭素固定能の増強による地球温暖化対応研究

担当者 内宮博文

地球温暖化の原因は、大気中に排出される二酸化炭素、メタンガスなどに起因する。本研究では、高いストレス耐性を有する植物の開発に挑戦し、環境浄化/エネルギー資源などの実用的システム構築を試みる。そのため、効率的な CO₂ 固定能を有する植物の研究を行う。レドックス調節、代謝酵素、酸化還元に関する遺伝子の解析を行う。

6) 河川の樹林化の機構の解明と対策

担当者 浅枝 隆

わが国の河川の多くは、近年、大量の植生繁茂に悩まされている。本研究では、そうした、近年特に、河道内に植生が繁茂してきた原因の把握が課題である。本年度までの成果として、河道内の植比率は河川の富栄養化の度合いと高い相関があること、土壌中の窒素濃度の上昇が植生特に草本類の増加を引き起こし、それがトリガーとなって、更に、細粒土砂や栄養塩を捕捉、植生繁茂を助長していることが明らかになった。今後はこの過程をモデル化し、河川管理に供用されることが求められている。

7) 埼玉県「羽生市宝蔵寺沼ムジナモ自生地緊急調査」

担当者 金子康子

2009 年度には、埼玉県「羽生市宝蔵寺沼ムジナモ自生地緊急調査」を実施した。羽生市の委

託を受け、稀少な水生食虫植物であるムジナモの自生地復元を目指した調査団を組織し、調査を開始した。現在ムジナモの生息が見られる奈良磐之媛命陵外濠と宝蔵寺沼の環境を比較し、ムジナモが生育できる環境を宝蔵寺沼に復元することを最終目標としている。

また、マメ科植物根粒形成過程における根粒菌と植物の相互作用に関する研究として、発達中のダイズ根粒感染細胞における共生体膜の形成に関する細胞学的研究を行った。また、2010年度には、2009年度に引き続き、2年次目として各調査の本格的実施を行うと共に、『遺伝子の多様性』や『魚類』など調査項目を増やした。前年度調査を踏まえ、植生の復元とムジナモの自然放流を目指した。また、魚類、ウシガエルのオタマジャクシによる食害の実体を把握し、ウシガエルの削減に着手した。ムジナモの生育に必要な多様な因子を把握するためにムジナモ捕虫葉の消化・吸収過程を解明するための研究をすすめた。

また、マメ科植物根粒形成過程における根粒菌と植物の相互作用に関する研究や、植物の重力などの環境刺激に対する応答の細胞学的研究を行った。

さらに、低温・低真空走査電子顕微鏡による植物組織・細胞の構造と機能解明を目指した研究を行った。

(4) その他の研究

8) 環境動態解析：東南アジア圏の水生昆虫のゲノム解析

担当者 藤野 毅

国内外に広く生息する造網型トビケラの由来について、寒冷地と温暖地を比較対象区として、それぞれの核 DNA のタイプを GP 法によって調べ、その中で共通の遺伝子と思われる部分を抽出し、どちらが先にいつごろ分かれたかを推定する。

9) 二次元蛍光測定法を用いた河川一次生産性の評価

担当者 藤野毅

河川の一次生産の見積は大変困難であり、一次生産者（藻類）の現存量として Chl-a の計測がなされている。本研究は、様々な状態に置かれた一次生産者の光合成活性度に着目し、二次元蛍光測定法を用いて現存量とストレス状態を比較し、より精度の高い一次生産量の推定を目指す。(研究協力者：仲本準准教授。2010年度も継続)

III. 研究業績

1) 論文執筆状況

①2009年度および2010年度における SCI ジャーナル掲載論文数は以下のとおりである。

	浅枝	マシ [°] ャロ ハ [°]	内宮	門野	金子	川合	竹澤	仲本	西山	日原	藤野	三輪	計
2009	11	0	5	0	4	5	1	3	2	3	3	1	38
2010	12	0	7	0	5	7	1	1	3	2	5	0	43
計	23	0	12	0	9	12	2	4	5	5	8	1	81

2) サイテーション数

2009 年度および 2010 年度に掲載された原著論文のうち、2011 年 2 月現在での引用回数は以下のとおりである。

2009 年度 8

2010 年度 71

3) 学会招待講演数

2009 年度および 2010 年度における学会招待講演の回数は以下のとおりである。

2009 年度 海外 6 国内 4

IV. 外部資金取得状況

2009 年度および 2010 年度における外部資金取得状況は以下のとおりである。

1) 2009 年度

単位：千円

	プロジェクト名	総額	直接 経費	間接 経費
浅枝	1) 河川敷のアレチウリ・クズ群落の生育土壌、栄養塩源及び遷移課程の解明と管理指針の作成、河川整備基金、河川環境管理財団、代表 浅枝 隆	1,000	1,000	0
	2) 漁場環境調査指針作成事業、健全な内水面生態系復元等推進委託事業、水産庁、分担、(代表 阿部信一郎)	3,900	3,900	0
内宮	1) 科学研究費補助金基盤研究B 分子シグナル解析によるストレス抵抗性植物の育種基盤	5,980	4,600	1,380
	2) 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 メタボローム解析に基づく高バイオマス生産型農林作物の分子代謝育種	18,000	18,000	0
金子	1) 羽生市受託研究, 羽生市宝蔵寺沼ムジナモ自生地緊急調査	3,000	2,700	300
	2) 埼玉大学総合研究機構プロジェクト研究一般新領域研究 低温・低真空走査電子顕微鏡 (SEM) を活用した植物組織・細胞の生きている状態に近い微細構造と機能の解明	750	750	0
	3) 羽生市受託研究, 羽生市宝蔵寺沼ムジナモ自生地緊急調査	2,000	1,800	200
	4) 埼玉大学総合研究機構プロジェクト研究一般基礎研究ダイズ根粒における窒素固定根粒菌との細胞内共生系の研究ー根粒菌を包む共生膜形成に関わる新規膜輸送モデルの創出ー	680	680	0
川合	1) 戦略的創造研究推進事業 (CREST), 栄養シグナルによる細胞応答変化の解析	22,100	17,000	5,100

	2) 新農業展開プロジェクト, イネの酸化ストレス応答の分子基盤研究	10,000	10,000	0
	3) 科学研究費補助金・新学術領域研究(公募), 脂肪酸代謝をエフェクターとする植物酸化ストレス応答細胞死の機構, 2,400 千円 (3,120 千円)	3,120	2,400	720
	4) 総合研究機構一般研究基礎研究, 環境ストレス耐性有用植物の作出を目指した分子基盤研究,	700	700	0
仲本	1) 科学研究費補助金・平成21/22/23年度基盤研究(C)(2), シアノバクテリアの環境適応に果たすHtpG(Hsp90)の役割	4,180	3,700	480
	2) 埼玉大学平成21年度連携大学院共同研究費, 創薬を目的とした、分子シャペロン機能を調節する生理活性低分子化合物の探索と、その作用機構の解析	500	500	0
日原	1) 科学研究費補助金・若手研究(B), シアノバクテリアの強光順化における転写制御機構の解明	4,160	3,200	960
	2) 公益信託林女性自然科学者研究助成基金 研究助成, シアノバクテリアにおける光強度依存的な転写調節機構の解明	1,600	1,600	0
藤野	1) 科学研究費補助金・基盤研究(C), 2009-2011, 二次元蛍光測定法を用いた現地直接測定による河川一次生産性の評価	4,170	3,500	670
	2) 日本学術振興会二国間交流事業・共同研究, 2009-1011, 日本-タイにおける渓流域生態系の動態解明と評価手法に関する共同研究	7,500	7,500	0
	3) 日本学術振興会・外国人特別研究員, 2008-2010, 難分解性溶存有機態と窒素負荷が河川一次生産量に及ぼす影響評価	2,000	2,000	0
マジ ャロ バ	研究助成金 (財)新技術開発財団植物研究助成 バイオス ペックル用いた光断層画像法による植物の環境ストレスモ ニタリング 1,230 千円 (代表者)	1,230	1,230	0
	合 計	96,570	86,760	9,810

2) 2010 年度

単位：千円

	プロジェクト名（代表者のみ）	総額	直接 経費	間接 経費
浅枝	1) 河川管理のための藪化・樹林化の主原因の同定-地形変形・植生遷移の予測-対策評価のシステム構築、国土交通省河川技術開発、代表 浅枝 隆	47,000	47,000	0
	2) 同位体比及び土壌微量成分分析を用いた河床低下に伴う土丹露出・流出による河川生態系への影響についての研究、とうきゅう環境浄化財団、代表 浅枝 隆	1,980	1,980	0
	3) 湖の堆積土砂の排出による下流河川の樹林化及びレキ河川消失の原因の解明と対策、住友財団、代表 浅枝 隆、	2,000	2,000	0
	4) の生長速度、群落拡大速度と基盤土壌安定性から定まる動的安定状態の解明と砂管理の影響評価法の作成、河川整備基金、河川環境管理財団、代表 浅枝 隆	1,600	1,600	0
内宮	1) 科学研究費補助金基盤研究B 分子シグナル解析によるストレス抵抗性植物の育種基盤	5,980	4,600	1,380
	2) 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業 メタボローム解析に基づく高バイオマス生産型農林作物の分子代謝育種	17,650	17,650	0
川合	1) 戦略的創造研究推進事業（CREST），栄養シグナルによる細胞応答変化の解析	9,750	7,000	2,750
	2) 新農業展開プロジェクト、イネの酸化ストレス応答の分子基盤研究	8,000	8,000	0
	3) 科学研究費補助金・新学術領域研究（公募），脂肪酸代謝をエフェクターとする植物酸化ストレス応答細胞死の機構	2,990	2,300	690
	4) 河川整備基金助成事業、河川環境保全におけるカビ臭産生藍藻類の分子生物学的モニタリング手法の開発、1,200 千円	1,200	1,200	0
	5) 総合研究機構一般研究基礎研究，環境ストレス耐性有用植物の作出を目指した分子基盤研究	600	600	0
竹澤	1) 科学研究費補助金（基盤研究(C)）「苔類ゼニゴケを用いた植物ストレス応答の進化生理学的研究」平成 22-24 年度 2) 総合研究プロジェクト（一般研究）「苔類ゼニゴケを用いたストレス耐性関連遺伝子の探索			

藤野	1) 科学技術研究費補助金・基盤研究(C), 二次元蛍光測定法を用いた現地直接測定による河川一次生産性の評価, (H22年度, H21-H23)	1, 430	1, 100	330
	2) JSPS 二国間交流事業, 日本-タイにおける渓流域生態系の動態解明と評価手法に関する共同研究 (H22年度, H21-H23)	2, 500	2, 500	0
	合 計	101, 880	96, 330	5, 550

3) 2011 年度にむけた確定外部資金

① 予算種目：最先端・次世代研究開発支援プログラム

題目：「光合成電子伝達の最適化による植物バイオマス増進の技術基盤研究」

金額：直接経費 104,000 千円、間接経費 31,200 千円（135,200 千円）期間：H22-H24

内容：近年、大気中の二酸化炭素濃度の上昇が社会的問題として取り上げられ、二酸化炭素を吸収し、物質生産を行う植物の光合成機能が注目を集めている。本研究では、植物の光合成能力、物質生産能力向上のための手法の確立を目指す。

②予算種目：J S T 戦略的創造研究推進事業（さきがけ）

研究領域：「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」「グリコーゲンから油脂へ：シアノバクテリア変異株の代謝改変」

金額：平成 23 年度－25 年度 計 38,500 千円

内容：シアノバクテリア変異株に高蓄積しているグリコーゲンを、代謝改変により脂肪酸に変換し、最終的には油脂として蓄積させる。

V. 共同研究実績

2009 年度および 2010 年度の共同研究実績は以下のとおりである

1) 2009 年度

・金子康子

- 1) 生理学研究所 永山國昭教授「光顕・電顕相関観察法による細胞内核酸分子動態の解明」
- 2) 東北大学 高橋秀幸教授「宇宙研究班ワーキンググループ植物の重力受容－」
- 3) 西武造園株式会社 「植物の色・香り・質感を長期間保持する方法の検討」

・竹澤大輔

- 1) 京都大学・河内孝之「ゼニゴケ ABA 応答に関する研究」
- 2) 東京農業大学・坂田洋一「ヒメツリガネゴケ非感受性変異株の解析」
- 3) 山形大学・和泉義信「SAXS による植物カルモジュリンの構造解析」

・仲本 準

- 1) 理化学研究所 「分子シャペロンを調節する天然小分子化合物の探索」
- 2) ハンガリー科学アカデミー「分子シャペロンによる生体膜の品質管理」

・藤野 毅

- 1) 日本学術振興会・二国間共同研究「日本・タイにおける渓流域生態系の動態解明と評価手法に関する共同研究（期間 2009 年度～2011 年度）」
- 2) 環境水理研究所「湖沼の水質改善手法に関する研究（期間 2009 年度～2010 年度）」

・マジャロバ

- 1) (財)株式会社東洋精機製作所 統計干渉システムによる高精度ひずみ測定装置 500 千円 (代表者)

2) 2010 年度

・金子康子

- 1) 生理学研究所 永山國昭教授 「光顕・電顕相関観察法による細胞内核酸分子動態の解明」
- 2) 東北大学 高橋秀幸教授 「宇宙研究班ワーキンググループ植物の重力受容ー」
- 3) 西武造園株式会社、パレス化学株式会社「植物の組織・細胞を可能な限り自然の状態で長期間保持する方法の研究」
- 4) 生理学研究所 村田和義准教授 「バクテリア細胞内クロモソーム DNA の立体構造の解明」

・竹澤大輔

- 1) 京都大学 河内孝之「ゼニゴケ ABA 非感受性変異株の遺伝学的解析」
- 2) 東京農業大学 坂田洋一「ヒメツリガネゴケ ABI1 破壊変異株の解析」
- 3) 北海道大学 「苔植物の適合溶質の解析」
- 4) 理化学研究所 梅澤泰史「ABA 応答におけるタンパク質リン酸化の役割」

・仲本 準

- 1) 理化学研究所「分子シャペロンを調節する天然小分子化合物の探索」
- 2) 産業技術総合研究所「分子シャペロン間の相互作用解析」
- 3) ハンガリー科学アカデミー「分子シャペロンによる生体膜の品質管理」

・藤野 毅

- 1) 日本学術振興会・二国間共同研究 日本・タイにおける渓流域生態系の動態解明と評価手法に関する共同研究（期間 2009 年度～2011 年度）」
- 2) 環境水理研究所 湖沼の水質改善手法に関する研究, 環境水理研究所（期間 2009 年度～2010 年度）

・マジャロバ

- 1) (財)株式会社東洋精機製作所 OCT を応用した膜厚および複屈折率測定装置

VI. 学会活動

本部門の構成員による学会活動等は以下のものである。

・学会委員

河川懇談会委員（浅枝）

応用生態工学会東京支部会長（浅枝）

日本植物脂質科学研究会幹事（川合）

日本植物細胞分子生物学会評議員（川合）

日本植物学会男女共同参画学協会連絡会委員（川合）

低温生物工学会理事(竹澤)

日本植物学会評議員(日原)

顕微鏡学会評議員(金子)

・ジャーナル編集委員

Wetlands Ecology and Management, Editor（浅枝）、

Limnology, Editor (浅枝)、

Landscape and Ecological Engineering, Editor in Chief（浅枝）、

応用生態工学、担当編集委員（浅枝）

低温生物工学会誌 編集委員（竹澤）

VII. 本年度の反省点、来期にむけた改善点

●本年度は、昨年度と比較して、部門内の共同活動が各段に進んだといえる。しかし、更に、進めていく必要がある。ただし、大型予算等による研究は、必ずしも、部門内の共同活動に適したものばかりではなく、構成員各自の活動が最大限に発揮されるよう考えていく必要がある。

●本部門の構成員による研究活動は、大学内で突出したものがある。しかしながら、大学の現方針として、大学の中期目標に反して、学部教育を中心とした教育負担、学内のマネジメントにおいては、研究活動等の状況に関わらず一律に求められている。そのため、業務負担の著しい不均衡を生じ、構成員の中には、健康上の不調を訴えるもの等が続出しており、また、大型資金等による研究遂行も儘ならない状況にある。こうしたことは、部門の健全な運営に多大な支障をきたすだけでなく、大学にとっても多大な損失と考えられる。（大学としてデータを出すことを拒否されるので、実態は不明であるが、間接経費等でも大学の予算は潤っていることが予想される）センターとして、大学執行部や各所属学科長に、大学における研究活動の重要性を説き、こうした不均衡の是正を、手遅れになる前に求めていくことが緊急の課題である。

●部門構成員内において、研究活動や部門活動に極めて大きな差が生じている。環境科学研究センターが大学に設置された研究センターである以上、研究活動において他より優れていることが求められる。構成員の中には、必ずしも部門の目的にそぐわず、これがこうした差を生む原因となっていると考えられる。構成員の構成の一日も早い見直しが求められる。