

令和元年6月11日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07867

研究課題名(和文) フジツボ類の付着阻害物質・付着誘引物質を用いた次世代型環境調和付着防汚法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel antifouling method using a combination of antifouling compounds and settlement-inducing peptides

研究代表者

北野 克和 (KITANO, Yoshikazu)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10302910

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、フジツボなどの海洋付着生物に対する“環境にやさしい”付着防汚技術開発につながる検討を行った。具体的には、フジツボを殺生することなく付着のみを阻害する付着忌避物質について、海洋を中心とした評価試験を行った。その結果、いくつかの化合物について、一定期間有効な防汚効果が観察された。また、付着生物の付着を誘引する化合物の開発も行った。その結果、有効な付着誘起・誘引活性を有するペプチド化合物を数種類創製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、海洋付着生物であるフジツボの付着を殺生することなく防ぐ付着忌避物質を開発するとともに、フジツボ幼生の付着を誘引する化合物を創製した。開発した付着忌避物質については、現在使用されている環境汚染の懸念されている付着防汚物質に変わり、今後環境調和型の付着防汚剤として利用されることが期待される。また、付着誘引物質については、海洋生物が付着すると望ましくない海洋構築物のそばに置くことによって、フジツボトラップとして利用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Environmentally friendly antifouling techniques were developed with active antifouling compounds and settlement-inducing peptides. The field tests of antifouling amino acid-isocyanides showed that they were promising antifouling agents. In addition, some 6-residue peptides showed an effective settlement-inducing activity against the barnacles at the cypris larvae stage.

研究分野：生物有機化学

キーワード：海洋付着生物 付着阻害 付着防汚 付着誘起 付着誘引 フジツボ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) フジツボなどの海洋付着生物は、船底、漁網（養殖網・定置網）および発電所の冷却システム等に付着し日本国内だけでも年間 1,000 億円以上もの多大な被害を与えている。これら生物の防除には、従来有機スズ化合物、亜酸化銅化合物、および農薬系化合物（バイオサイド）を含む防汚塗料が主に使われてきた。しかしながら、有機スズ系防汚塗料は、様々な環境汚染が明らかになり国際海事機関により 2008 年より世界的に使用が禁止され、また、現在防汚剤として使用されている亜酸化銅、バイオサイド系防汚塗料についても、それら防汚剤だけでなく分解物含めて蓄積による環境への悪影響が問題視されはじめ、近年多くの環境汚染に関する報告がなされている。そのため、新たなコンセプトに基づく“環境にやさしい”付着防汚剤の開発が強く望まれている。

(2) これまでに研究代表者らは、ウミウシなどより単離される付着阻害物質に着目して、フジツボキブリス幼生への付着阻害活性を指標とした、構造 - 活性相関の考察を行い、イソニトリル化合物を中心とした様々な付着阻害物質を創製してきた。そして、漁網のテストピースを用いた海洋評価試験を行った結果、数種類の化合物において有効な付着防汚効果が観察され、海域によっては、従来の付着防汚剤より高い効果が得られることを明らかにした。しかしながら、これまでに得られている付着阻害物質は、現在使用されている付着防汚物質よりも低毒性ではあるが、生分解性の点では改善の余地があった。そこで最近、これまでの研究を進展させて、最終的に生分解されてアミノ酸へと変化する環境調和型の次世代型付着阻害物質である“アミノ酸誘導体付着阻害物質”を創製した。創製したアミノ酸誘導体付着阻害物質は、最終的には加水分解の機構により、生分解されて無毒性の元のアミノ酸へと変化的ことから、従来の防汚剤と異なり分解物の毒性や蓄積性は問題視されない。従って、“環境にやさしい”次世代型の付着防汚剤としての利用が期待される。しかしながら、アミノ酸誘導体付着阻害物質については、まだ構造の最適化、実海域での評価試験は十分に行われていなかった。

(3) 一方、近年、付着防汚方法の一つとして、付着誘引フェロモンが着目されている。これは、付着生物の成体が、種の存続のために同種幼生を引き寄せるために利用している物質であり、本物質を利用すれば、防汚の対象物から付着生物を別の場所へ遠ざけることが可能となる。そのため、付着防汚剤と共に用いられれば、既存の付着防汚剤の使用量の削減を含めて、新たな効率的な付着防汚システムを提案できる。これまでに連携研究者・野方らは、フジツボ類の付着誘引フェロモンに関する研究を行い、分子量約 30,000 のタンパク質、および 12 残基のペプチド化合物を見つけた。しかしながら、12 残基のペプチド化合物は、水溶性、および安定性が悪く、海洋評価試験を含めて、実用化開発を行うためには、まだ改善の必要があった。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、アミノ酸誘導体付着阻害物質をさらに検討し、海洋評価試験を中心に行うことによって、最終的に実用化開発を目指すような付着阻害物質を創製することを目的とした。

(2) また、付着誘引活性に関する構造 - 活性相関の考察を行うことによって、より低分子化した付着誘引フェロモン物質を創製するとともに、創製した、付着阻害物質、および誘引物質を同時に用いることによって、新たなより効果的な付着防汚システムを開発することとした。

3. 研究の方法

(1) これまでに、実験室内フジツボキブリス幼生を用いた付着試験で有効な付着阻害活性を示した、アミノ酸誘導体イソニトリルについて、10 g スケールの合成を行い、漁網のテストピースを用いた海洋評価試験を行った。

(2) また、非タンパク質構成アミノ酸由来のアミノ酸誘導体イソニトリルについても新たに創製し、実験室内付着試験を実施するとともに、有効な付着阻害活性を示した化合物について 3 - (1)と同様に 10 g スケールの合成を行い、漁網のテストピースを用いた海洋評価試験を行った。

(3) 一方、付着誘引活性に関する構造活性相関の考察に関しては、付着誘引（誘起）活性の認められていた 12 残基ペプチドを 6 残基、4 残基、および 3 残基に断片化したペプチド化合物を合成し、フジツボキブリス幼生を用いた付着誘引（誘起）試験を行った。

4. 研究成果

(1) アミノ酸誘導体イソニトリル化合物については、海洋評価試験を行った結果、コントロールに比べて有効な付着防汚効果が観察された。そして、特に、芳香環を有する化合物に他と比べて有効な防汚効果が確認された。

(2) 付着誘起活性を有するペプチド化合物については、6 残基に断片化したペプチドにおいても、基の 12 残基ペプチドとほぼ同等の付着誘起効果が観察されるとともに、ある共通の配列を有すると、比較的高い付着機器活性を有することが示唆された。

(3) また、付着誘起効果を示したペプチドについては、ゲルに担持し付着誘引試験を行った結果、有効な付着誘引活性があることも観察されるとともに、付着阻害物質を併用した場合には、より効果的に付着を誘引することが示唆された。

(4) 以上の結果から、付着忌避物質と付着誘引（誘起）物質を併用する新たな付着防汚方法が提案された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

田福 咲椰佳、福田 拓也、千葉 一裕、北野 克和、“A New Method for the Preparation of Bis(alkylamino)maleonitriles from Aliphatic Isocyanides with TMSCN and Bi(OTf)₃”、Synthesis、46、2019、2318–2322、DOI: 10.1055/s-0037-1610865、査読有

北野 克和、“Development of new antifouling active isocyno compounds: Structure-antifouling activity relationship studies using 3-isocyanotheonellin as lead compound”、Sessile Organisms、35(1)、2018、1–6、<https://doi.org/10.4282/sosj.35.1>、査読有

黒田 湧、長谷川 啓子、野口 恵一、千葉 一裕、蓮見 恵司、北野 克和、“Confirmation of the absolute configuration of Stachybotrin C using single-crystal X-ray diffraction analysis of its 4-bromobenzyl ether derivative”、The Journal of Antibiotics、71(6)、2018、584–591、DOI: 10.1038/s41429-018-0042-2、査読有

井上 祐来、高嶋 脩平、野方 靖行、吉村 えり奈、千葉 一裕、北野 克和、“Isocyanides Derived from α,α -Disubstituted Amino Acids: Synthesis and Antifouling Activity Assessment”、Chemistry & Biodiversity、15、2018、e1700571、DOI: 10.1002/cbdv.201700571、査読有

岡田 郁、福田 拓也、黒田 湧、野口 恵一、千葉 一裕、北野 克和、“Direct Synthesis of Bis(alkylamino)maleonitriles from Alcohols and TMSCN with Bi(OTf)₃”、Synthesis、49、2017、1301–1306、DOI: 10.1055/s-0036-1588661、査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

田福 咲椰佳、福田 拓也、千葉 一裕、北野 克和、「イソニトリルを用いたビス(アルキルアミノ)マレオニトリルの合成」、日本農芸化学会 2019 年度大会、2019 年 3 月 24 日、東京農業大学(東京)

井上 祐来、高嶋 脩平、野方 靖行、吉村 えり奈、千葉 一裕、北野 克和、「 α,α -二置換アミノ酸誘導体イソニトリルの合成とフジツボキプリス幼生に対する付着阻害活性の評価」、2018 年度日本付着生物学会総会・研究集会、2018 年 3 月 26 日、東京海洋大学(東京)

中嶋 菜摘、野方 靖行、吉村 えり奈、千葉 一裕、北野 克和、「 β -シトロネロール誘導体イソチオシアナート化合物の合成とフジツボキプリス幼生に対する付着阻害活性の評価」、2018 年度日本付着生物学会総会・研究集会、2018 年 3 月 26 日、東京海洋大学(東京)

北野 克和、「3-Isocyanotheonellin をリード化合物とした付着阻害活性に関する構造 - 活性相関の考察と新規付着阻害物質の創製」、2017 年度付着生物学会シンポジウム、2017 年 10 月 22 日、東京海洋大学(東京)

黒田 湧、岡田 郁、福田 拓也、野口 恵一、千葉 一裕、北野 克和、「アルコールからのビス(アルキルアミノ)マレオニトリルの合成」、日本農芸化学会 2017 年度大会、2017 年 3 月 18 日、京都女子大学(京都)

高嶋 脩平、野方 靖行、吉村 えり奈、千葉 一裕、北野 克和、“Synthesis of α,α -Disubstituted Amino Acid-Isocyanide Derivatives and Structure-Activity Relationship Studies toward Antifouling Activity”、18th International Congress on Marine Corrosion and Fouling、2016 年 6 月 21 日、ツーロン大学(フランス)

〔その他〕

ホームページ等

<http://web.tuat.ac.jp/~bio-org/>

6．研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：野方 靖行

ローマ字氏名：NOGATA Yasuyuki