

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：32607

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19237

研究課題名（和文）生体内におけるポリアミンが寄与する新たなCO₂輸送機構の解明研究課題名（英文）Elucidation of novel CO₂ transport mechanism contributed by biogenic polyamines

研究代表者

安元 剛（Yasumoto, Ko）

北里大学・海洋生命科学部・講師

研究者番号：00448200

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：ミドリイシサンゴの石灰化部位のpH制御にポリアミン輸送体阻害剤（PTI）が及ぼす影響を調べたところ、PTIで処理するとpHの低下が起きた。加えて、ポリアミン溶液中で起こるin vitroのアラゴナイト形成反応とin vivoのミドリイシサンゴのアラゴナイトの骨格形成にCO₂レベルが及ぼす影響を調べた。その結果、in vitro、in vivoでのCaCO₃形成はCO₂レベル上昇に伴い減少することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、これまで未解明な点が多かった海洋生物の石灰化反応に関与する二酸化炭素輸送や細胞内のpH調整に関する新たな生理機能を提唱し、学術的に新しい視点を与えると期待できる。また、海洋生物の石灰化反応が二酸化炭素固定反応であること、海水を利用した新たな二酸化炭素削減法の創出といった社会を大きく変革・転換させ、飛躍的な発展に貢献する社会的意義も有する成果である。

研究成果の概要（英文）：We hypothesized that the biogenic polyamines are related to the alkalization of the calcifying fluids. To ascertain such hypothesis, we investigated the effect of a polyamine transporter inhibitors (PTI) on pH in the calcifying fluids in primary polyps of Acroporid corals. When the primary polyps were treated with PTI, the pH of the calcifying fluids in polyps was significantly lower than that of polyps without the treatment. In addition, we examined the effects of CO₂ levels on in vitro aragonite CaCO₃ formation by using biogenic polyamines and on in vivo aragonite formation in the skeleton of juvenile Acropora digitifera corals. As a result, we showed that the calcification rate clearly decreased both in vitro and in vivo CaCO₃ formation, accompanying the increase of the CO₂ level. Our findings elucidated novel physiological functions of polyamines, thus providing a new concept on the calcification mechanisms in marine organisms.

研究分野：生物有機化学，バイオミネラリゼーション

キーワード：ポリアミン 二酸化炭素 炭酸カルシウム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

全炭素の約半分は、有孔虫や円石藻など石灰化(CaCO_3 形成)を行う海洋生物が起源の炭酸塩堆積物である。この炭酸塩堆積物や有機炭素を二酸化炭素(CO_2)に戻すと、30気圧で98%が CO_2 という原始大気の組成となる。つまり、太古大気に膨大にあった CO_2 が現在の1気圧0.04%まで減少したのは、光合成だけでなく海洋生物の石灰化反応に寄与も大きいと推定できる。しかし、生体内の CO_2 輸送機構は多くの部分が未解明で、海洋生物がどのように CO_2 を CaCO_3 へ変換するのかが分かっていない。我々は石灰化機構の研究過程で、最も普遍的な生体アミンであるポリアミン CO_2 と高い親和性を有することを世界で初めて発見し石灰化促進に寄与することを明らかにした。ポリアミンは分子内に複数のアミノ基を有する脂肪族アミンの総称で、最も普遍的な生体アミンであるがポリアミンの主な生理機能は不明な点が多く残されている。以上の背景のもと、海洋生物の石灰化における CO_2 輸送とポリアミンの寄与を明らかにする一助とすべく研究を行った。

2. 研究の目的

(1) サンゴの石灰化は造骨細胞と骨格の間に存在する石灰化母液(SCM)で進行し、このSCMの組成は海水のそれとは異なることがわかってきた。このSCMのpH(pH_{SCM})はサンゴによって生理的にコントロールされており、周囲の海水のpH(pH_{sw})より0.5~1程度高いが、詳しい調節機構は分かっていない。そこで、「生体内でもポリアミンが CO_2 濃縮に寄与し、海洋生物の石灰化反応とpH調整に寄与している」との仮説を検証するためポリアミン生合成および輸送体阻害剤がサンゴ稚ポリプの石灰化部位のpH上昇に及ぼす影響を調べた。

(2) ポリアミンによる石灰化反応は大気中の CO_2 を炭素源とする為、大気中の CO_2 濃度変化に左右されると推定される。本研究では、0.04~5%の異なる CO_2 濃度でのポリアミンの石灰化反応の起こりやすさを調べるとともに、ポリアミンの CO_2 取り込み反応をNMRで調べることとした。また、反応溶液中の $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ のケミカルシフトから存在比やpHを算出する方法も検討した。同様な条件で、コブミドリイシ *Acropora digitifera* 稚ポリプ底面の石灰化速度を検証し、ポリアミンによる石灰化反応との相同性を検証した。

3. 研究の方法

(1) 蛍光pH指示薬を用いた pH_{SCM} イメージングと、ポリアミン蛍光プローブを組み合わせた組織観察により、ポリアミン生合成阻害剤およびポリアミン輸送体阻害剤が、コブミドリイシ *A. digitifera* 稚ポリプの pH_{SCM} 上昇やポリアミン量に及ぼす影響を検証した。

(2) ポリアミンを D_2O に溶解し、様々な CO_2 濃度に設定した CO_2 インキュベーター内で48時間静置し、継時的にポリアミン溶液をNMR管に分取し、 ^1H および ^{13}C -NMRを測定した。

(3) ポリアミンによる石灰化反応では、ポリアミンを海水に添加し、様々な CO_2 条件で一晩静置後に石灰化量を調べた。

(4) サンゴを用いた実験では *A. digitifera* のプラヌラ幼生をガラススペースディッシュに約10個体ずつ入れ、稚ポリプへと変態誘導した。その後、様々な CO_2 条件に設定した CO_2 インキュベーター内(25℃)で飼育した。サンゴの石灰化速度は、偏光倒立顕微鏡で底面骨格を撮影し算出した(図1)。

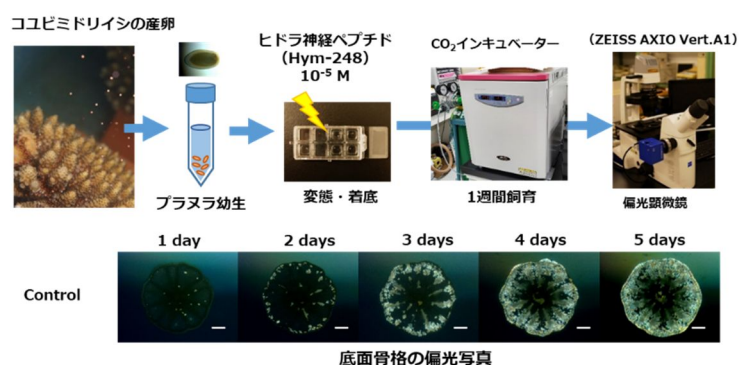


図1 サンゴを用いた様々な CO_2 での石灰化率の変化

4. 研究成果

(1) サンゴ稚ポリプSCMの ΔpH ($\text{pH}_{\text{SCM}} - \text{pH}_{\text{sw}}$)は、ポリアミン生合成阻害剤の添加では変化しなかったが、ポリアミン輸送体阻害剤の添加により有意に低下した。また、稚ポリプ細胞内のポリアミン量は、ポリアミン生合成阻害剤の添加で、有意に減少し、ポリアミン輸送体阻害剤の添加では減少傾向を示した。以上の結果より、サンゴ稚ポリプの pH_{SCM} 上昇にはポリアミン輸送体が寄与している可能性が示された。

(2) ^1H および ^{13}C -NMRから、反応溶液中のポリアミン- CO_2 結合体、 HCO_3^- と CO_3^{2-} の各濃度とpHの推移を算出することに成功した。反応溶液中のポリアミン- CO_2 結合体の割合と $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$ 濃度は、 CO_2 濃度の上昇と共に増加した。一方、反応溶液中の CO_3^{2-} の割合は大気圧下で最も高く、 CO_2 濃度の上昇と共に減少した。

(3) ポリアミンによる石灰化反応では、大気 CO₂ 条件下で最も石灰化率が高く、0.1% で約 5 割、0.5% で約 2 割に減少した。1% 以上では殆ど石灰化反応は進行しなかった(図 2)。

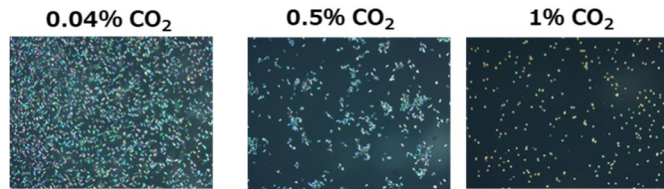


図 2 サンゴを用いた様々な CO₂ での石灰化率の変化

(4) サンゴ稚ポリプの石灰化も同様に、大気 CO₂ 条件下で最も石灰化率が高く、0.1、0.5% では石灰化速度は低下した。着底誘導時には僅かに形成された骨格が、5% CO₂ 条件では溶解し、翌日には全て底面のガラスから脱離した。ポリアミンによる石灰化反応とサンゴの石灰化反応では、CO₂ 濃度と石灰化率に非常に高い相関性があることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasumoto Ko, Sakata Tsuyoshi, Yasumoto Jun, Yasumoto-Hirose Mina, Sato Shun-ichi, Mori-Yasumoto Kanami, Jimbo Mitsuru, Kusumi Takenori, Watabe Shugo	4. 巻 8
2. 論文標題 Atmospheric CO2 captured by biogenic polyamines is transferred as a possible substrate to Rubisco for the carboxylation reaction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-35641-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iijima Mariko, Yasumoto Ko, Yasumoto Jun, Yasumoto-Hirose Mina, Kuniya Nami, Takeuchi Ryota, Nozaki Masashi, Nanba Nobuyoshi, Nakamura Takashi, Jimbo Mitsuru, Watabe Shugo	4. 巻 21
2. 論文標題 Phosphate Enrichment Hampers Development of Juvenile Acropora digitifera Coral by Inhibiting Skeleton Formation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Marine Biotechnology	6. 最初と最後の頁 291 ~ 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10126-019-09880-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 2件/うち国際学会 6件）

1. 発表者名 飯島真理子, 安元剛, 神保充, 難波信由, 安元純, 廣瀬美奈, 渡部終五
2. 発表標題 リン酸塩を吸着したCaCO3基盤はサンゴの骨格形成を阻害する
3. 学会等名 第20回マリンバイオテクノロジー学会宮崎大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安元剛, 廣瀬美奈, 安元(森)加奈未, 野澤拓馬, 神保充, 渡部終五
2. 発表標題 異なるCO2濃度条件下でのポリアミンによるCO2取り込みとCaCO3形成反応
3. 学会等名 第20回マリンバイオテクノロジー学会宮崎大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 窪田 梓, 安元 剛, 飯島真理子, 平野 蓮, 天野春菜, 水澤奈々美, 神保 充, 廣瀬美奈, 安元 純, 渡部終五
2. 発表標題 ミドリイシサンゴにおける石灰化の分子機構
3. 学会等名 第13回 バイオミネラリゼーションワークショップ 東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会 バイオミネラリゼーションと石灰化 - 遺伝子から地球環境まで -
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 飯島真理子, 安元 剛, 窪田 梓, 柳川恵莉奈, 神保充, 難波信由, 天野春菜, 水澤奈々美, 廣瀬美奈, 安元 純, 渡部終五
2. 発表標題 リン酸塩によるココビミドリイシ稚ポリプの骨格形成阻害メカニズム
3. 学会等名 第13回 バイオミネラリゼーションワークショップ 東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会 バイオミネラリゼーションと石灰化 - 遺伝子から地球環境まで - (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 窪田 梓, 平野 蓮, 安元 剛, 飯島真理子, 天野春菜, 水澤奈々美, 神保 充, 廣瀬美奈, 安元 純, 渡部終五
2. 発表標題 ミドリイシサンゴの石灰化機構とポリアミンの関わり
3. 学会等名 平成31 年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯島真理子, 安元 剛, 神保 充, 難波信由, 天野春菜, 水澤奈々美, 廣瀬美奈, 安元 純, 渡部終五
2. 発表標題 石灰岩島嶼沿岸域における栄養塩の動態とサンゴへの影響
3. 学会等名 平成31 年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯島真理子, 安元剛, 安元純, 廣瀬美奈, 神保充, 渡部終五
2. 発表標題 過剰リン酸塩はココビミドリイシ稚サンゴの骨格形成を阻害する
3. 学会等名 2019年度日本地球惑星連合大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kubota A, Hirano R, Yasumoto K, Iijima M, Yasumoto J, Yasumoto-Hirose M, Mizusawa N, Iguchi A, Jimbo M, Watabe S.
2. 発表標題 Effect of polyamine transporter inhibitor on the pH increase in calcifying fluids of juvenile coral polyps possibly associated with calcification processes.
3. 学会等名 Joint Conference of the 12th International Marine Biotechnology Conference and the 12th Asia Pacific Marine Biotechnology Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安元 剛
2. 発表標題 ポリアミン - CO2を捕捉する生体物質
3. 学会等名 第311回 京大大学生態研セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 窪田梓, 安元剛, 平野蓮, 飯島真理子, 井口亮, 安元純, 神保充, 渡部終五
2. 発表標題 サンゴ石灰化母液のpH上昇の分子機構
3. 学会等名 東京大学海洋研究所共同利用研究集会「バイオミネラリゼーションと石灰化 -遺伝子から地球環境まで-」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kunieda Y, Ushigome S, Koiso K, Nakajima N, Mizusawa N, Yasumoto K, Yasumoto J, Iijima M, Yasumoto-Hirose M, Jimbo M, Watabe S
2. 発表標題 Relationship between quality of calcareous sediments and juvenile corals growth
3. 学会等名 International Symposium on Aquatic Metagenomics 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuze M, Yasumoto-Hirose M, Mizusawa N, Yasumoto K, Yasumoto J, Iijima M, Kasai H, Amano H, Jimbo M, Watabe S
2. 発表標題 Phylogenetic relationships of prokaryotic symbionts in hard coral based on 16S rRNA sequences
3. 学会等名 International Symposium on Aquatic Metagenomics 2019. 24 November, 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasumoto K, Kubota A, Yasumoto J, Mori-Yasumoto K, Iijima M, Hirose Yasumoto M, Iguchi A, Jimbo M, Watabe S.
2. 発表標題 Effect of polyamine transporter inhibitor on the pH increase in calcifying fluids of juvenile coral polyps possibly involved in calcification processes
3. 学会等名 2019 AGU Fall Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iijima M, Yasumoto K, Yasumoto J, Hirose Yasumoto M, Iguchi A, Jimbo M, Watabe S.
2. 発表標題 Phosphorus enrichment hampers the development of juvenile coral by directly inhibiting biomineral skeleton elongation
3. 学会等名 2019 AGU Fall Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mori-Yasumoto K, Yasumoto K, Yasumoto-Hirose M, Yasumoto J, Jimbo M, Watabe S.
2. 発表標題 Mechanisms involved in calcium carbonate precipitation by marine microorganisms
3. 学会等名 2019 AGU Fall Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安元 剛, 平野 蓮, 窪田梓, 飯島真理子, 安元 純, 井口亮, 水澤奈々美, 天野春菜, 神保 充, 渡部終五
2. 発表標題 異なるCO2濃度条件下でのポリアミンによるCO2取り込みとCaCO3形成反応
3. 学会等名 第11回北里化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安元 剛, 窪田 梓, 平野 蓮, 飯島 真理子, 安元 純, 安元(森)加奈未, 神保 充, 渡部 終五
2. 発表標題 ポリアミン輸送体阻害剤の稚サンゴ石灰化部位のpH上昇に及ぼす影響
3. 学会等名 第11回日本ポリアミン学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安元 加奈未 (Yasumoto Kanami) (70412393)	徳島文理大学・薬学部・助教 (36102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	安元 純 (Yasumoto Jun) (70432870)	琉球大学・農学部・助教 (18001)	