科学研究費助成事業研究成果報告書



平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号: 32607

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2015~2017

課題番号: 15K07587

研究課題名(和文)ポリアミンは生体内でCO2を濃縮し海洋生物のCaCO3形成や光合成に寄与するのか

研究課題名(英文)Do biogenic polyamines capture CO2 and accelerate biomineralization and photosynthesis?

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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文):全ての生物の細胞内に高濃度で含まれているポリアミンという生体物質が,空気中の二酸化炭素と高い親和性を有し,二酸化炭素を水溶液中に取り込むという新たな化学的知見から光合成および石灰化への寄与を検証した。その結果,二酸化炭素を吸収させたポリアミン溶液は,光合成で炭素固定を担う酵素であるルビスコの炭素源となりうることを明らかにした。また,シアノバクテリアの増殖をポリアミン輸送体阻害剤が有意に阻害し,ポリアミンの光合成への寄与の可能性が示された。ミドリイシサンゴの稚ポリプの骨格形成の場である石灰化母液内のPHが周りの海水と比較して高いことが分かり,生体塩基であるポリアミンの関与の可能性を示した。

研究成果の概要(英文): Polyamines that present at high concentrations in the cells of all organisms can react with CO2 and promotes the formation of carbamate derivatives and bicarbonate in aqueous environments. The ability of polyamines to capture atmospheric CO2 prompted us to examine their roles in photosynthesis and calcification. Here, we demonstrated that atmospheric CO2 captured by polyamines is a candidate substrate for the carboxylation reaction of Rubisco, which is an enzyme involved in the first major step of carbon fixation during photosynthesis, and that polyamine transporter inhibitor can significantly inhibit the growth of cyanobacteria. These results suggest that polyamines are involved in photosynthesis. Moreover, we showed the extracellular calcifying fluids of coral polyps were about 0.5~1.0 higher than that of ambient seawaters. Our data propose the possibility that some basic substances are involved in the alkalization of the calcifying fluids in primary coral polyps.

研究分野: 天然物化学, バイオミネラリゼーション, 光合成

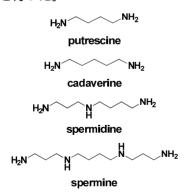
キーワード: ポリアミン 光合成 石灰化

1.研究開始当初の背景

原始大気の二酸化炭素は30気圧下で97% に上ったと見積もられており,現在の1気圧 下で 0.04%まで二酸化炭素は大きく減少して きたことになる.現在,地球上の全炭素の4 割は石灰岩や海底堆積物などに存在する炭 酸塩であり,約6割は天然ガス,石油,石炭 などの有機物である。どちらもその大部分が 生物起源とされている。すなわち、原始大気 に多量に存在した二酸化炭素は生物によっ て徐々に炭酸塩や有機物として固定されて きたのである。しかし,二酸化炭素がどのよ うに生物体内に取り込まれ石灰化や光合成 に利用されているかといった分子機構は詳 細に明らかにされていない。この生物の石灰 化や光合成に関わる二酸化炭素の取り込み 機構を解明することは、地球の炭素循環を正 確に理解するのに不可欠である。

2.研究の目的

我々は海洋細菌の培地中にみられる炭酸 カルシウム顆粒の形成機構の解明を目的と した研究により, すべての生物の細胞内に高 濃度で含まれているポリアミンという生体 物質(図1)が空気中の二酸化炭素と高い親 和性を有し,二酸化炭素を水溶液中に取り込 み石灰化を促進するという新しい化学的知 見を得た.そこで本研究では「ポリアミンは 生体内で二酸化炭素を濃縮し海洋生物の炭 酸カルシウム形成や光合成に寄与する」との 新しい仮説を立てるとともに,これを実証す るため ((1) 光合成における二酸化炭素固定 酵素であるルビスコにポリアミンが吸収し た二酸化炭素を供給できるか ((2)ポリアミ ンおよびポリアミン生合成阻害剤および輸 送体阻害剤がシアノバクテリアの増殖およ び光合成に及ぼす影響 ((3) ミドリイシサン ゴ稚ポリプの炭酸カルシウム骨格形成おけ るポリアミンの寄与の3つを主な目的とし て研究を行った。



1 . Biogenic polyamines

3.研究の方法

(1) 光合成における二酸化炭素固定酵素であるルビスコにポリアミンが吸収した二酸化炭素を供給できるか

ポリアミン溶液を静置しておくと空気中

の二酸化炭素と反応し,溶液中にポリアミンのカルバメイト体,重炭酸イオン,炭酸イオン濃度が上昇する。光合成における二酸化炭素固定酵素であるルビスコがこの二酸化炭素を吸収した水溶液を基質として利用できるかを検証した。

(2)ポリアミンおよびポリアミン生合成阻害剤および輸送体阻害剤がシアノバクテリアの増殖および光合成に及ぼす影響

ポリアミンのシアノバクテリアの増殖および光合成に及ぼす影響を調べるため,代表的なプトレッスシンとスペルミジンをシアノバクテリアの培養液に添加し増殖および光合成速度(酸素発生速度)を測定した。また,ポリアミンの生合成阻害剤である DFMOおよび DFMA とポリアミン輸送体阻害剤をシアノバクテリアの培養液に添加し,増殖に及ぼす影響を検証した。

(3) ミドリイシサンゴ稚ポリプの炭酸カルシウム骨格形成おけるポリアミンの寄与

ミドリイシサンゴ稚ポリプの石灰化は造骨細胞に囲まれた石灰化母液と呼ばれる細胞外液で起こるが,生体塩基であるポリアミンがあれば石灰化母液の pH が上昇するはずである。そこで,pH 蛍光指示薬を着底したサンゴ稚ポリプの飼育液に添加し,共焦点レーザー顕微鏡を用いて石灰化母液内の pH を調べた。

4. 研究成果

(1) 光合成における二酸化炭素固定酵素であるルビスコにポリアミンが吸収した二酸化炭素を供給できるか

二酸化炭素を吸収させたポリアミン溶液をルビスコの反応溶液に添加し,酵素活性を測定したところ,コントロールとして用いる重炭酸ナトリウムと同程度またはそれ以上の高い値を示した。この結果は,ポリアミンが空気中の二酸化炭素を吸収し,ルビスコの二酸化炭素固定反応に供給できることを示している。また,二酸化炭素を吸収させたポリアミン溶液はルビスコを活性化状態にすることも明らかになった。

(2)ポリアミンおよびポリアミン生合成阻害剤および輸送体阻害剤がシアノバクテリアの増殖および光合成に及ぼす影響

代表的なポリアミンであるプトレッスシンとスペルミジンをシアノバクテリアの培養液に添加したところ,スペルミジンは増殖および光合成に影響を及ぼさなかったのに対し,プトレッスシンはシアノバクテリアの増殖および光合成を有意に阻害した。シアノバクテリア内のポリアミンを分析したところ,スペルミジンが主要なポリアミンであり、その他のポリアミンは殆ど含まれていなかった。また,ポリアミン生合成阻害はシアノバクテリアの増殖にあまり影響を及ぼさな

かったのに対し,ポリアミン輸送体阻害剤はシアノバクテリアの増殖を低濃度でも有意に阻害した。これらの結果から,スペルミジンおよびその輸送体がシアノバクテリアの増殖または光合成に重要な働きをしていることが示唆される。

(3) ミドリイシサンゴ稚ポリプの炭酸カルシウム骨格形成おけるポリアミンの寄与

サンゴ稚ポリプの着底に観察できる石灰化母液内の pH は周りの海水に比べて 0.5~1程度高いことが明らかになった。個体によっては局所的な pH 上昇も確認できた。この pH 上昇に生体塩基のポリアミンがどの程度関与しているかは不明だが,今後明らかにしていきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

[学会発表](計19件)

- 1. 篠塚翔太,<u>安元</u> 剛,天野春菜,神保 充, 水澤奈々美,渡部終五,坂田 剛,廣瀬 美奈,<u>安元 純</u>,シアノバクテリアの光 合成にポリアミンが及ぼす影響,平成30 年度日本水産学会春季大会,東京海洋大 学品川キャンパス(東京都品川区),2018 年3月27~29日,口頭.
- 2. <u>安元</u>剛,野澤拓馬,神保 充,水澤奈々美,天野春菜,安元(森)加奈未,廣瀬美奈,渡部終五,NMR を用いたポリアミンの大気 CO₂の捕捉能力の検証,平成30年度日本水産学会春季大会,東京海洋大学品川キャンパス(東京都品川区),2018年3月27~29日,口頭.
- 3. 窪田 梓, <u>安元 剛</u>, 飯島真理子, 天野春菜,水澤奈々美,神保 充,渡部終五, 大野良和,廣瀬美奈,<u>安元 純</u>, Acropora digitifera 稚ポリプの石灰化母液内の局所 的 pH 上昇と物質輸送経路の解明,平成 30 年度日本水産学会春季大会,東京海 洋大学品川キャンパス(東京都品川区), 2018年3月27~29日,口頭.
- 4. 河田 凜,<u>坂田 剛</u>,<u>安元 剛</u>,関川清広, 松山 奏,後藤大也,神保 充,渡部終五, 葉内の CO₂ 不足が誘導するポリアミン による光合成促進,日本ポリアミン学会 第9回年会,関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス(兵庫県西宮市),2018年1月 19日,口頭.
- 5. 坂田 剛,安元 剛,中野隆志,関川清 広,杉村尚倫,松山秦,神保 充,渡部 終五,ポリアミンによる光合成の促進,日本ポリアミン学会第9回年会,関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス(兵庫県西宮市),2018年1月19日,口頭.
- 6. 安元 剛 <u>坂田 剛</u> 廣瀬美奈 <u>安元 純</u>,

- 安元(森)加奈未,神保充,渡部終五, NMR を用いたポリアミンの大気 CO₂ の捕捉能力の検証とポリアミンに捕捉 された CO₂の Rubisco 基質としての機 能,日本ポリアミン学会第9回年会, 関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス (兵庫県西宮市)2018 年 1月19日, 口頭.
- 7. <u>Ko Yasumoto</u>, Mariko Iijima, Fujii Kana, Azusa Kubota, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, Novel calcification method using biogenic polyamines and its application, The 14th International Symposium on Biomineralization (BIOMIN XIV), 9-13, October, 2017. Tukuba-Japan, Oral.
- Ko Yasumoto, Mariko Iijima, Kana Fujii, Azusa Kubota, <u>Jun Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, Mitsuru Jimbo and Shugo Watabe, Novel mechanisms for calcification of marine organisms and its application, , International symposium "Fisheries science for Future Generations" Tokyo-Japan, 22-24, September, 2017. Oral.
- 9. <u>安元</u>剛,ポリアミンは二酸化炭素を捕捉し石灰化を促進する,第16回学外共同研究会議ポリアミンと核酸の共進化,東京慈恵会医科大学(東京都港区),2017年9月9日,口頭(招待講演).
- 10. <u>安元</u> 剛 ,廣瀬美奈 ,<u>安元</u> 純 ,神保 充 , 渡部終五 ,海洋生物の石灰化における分 子メカニズムとその応用研究 ,第 19 回 マリンバイオテクノロジー学会仙台大 会 ,2017 年 6 月 3~4 日 ,東北大学(宮 城県仙台市),シンポジウム「バイオミ ネラリゼーションにおける有機 無機 相互作用の分子メカニズムを利用した 応用研究の最前線」,口頭 .
- 11. 篠塚翔太 <u>/安元 剛</u> <u>,坂田 剛</u> ,神保 充 , <u>安元 純</u> , 廣瀬美奈 , 渡部終五 , ポリア ミンがシアノバクテリアの光合成に及 ぼす影響 , 第 19 回マリンバイオテクノ ロジー学会仙台大会 , 2017 年 6 月 3~4 日 , 東北大学 (宮城県仙台市), ポスター:
- 12. 安元 剛,ポリアミン 二酸化炭素を捕捉し石灰化を促進する生体物質—,第19回日本サンゴ礁学会,自由集会『若手によるサンゴ礁研究の武器自慢』,2016年12月2日,てんぶす館(沖縄県那覇市),口頭(招待講演).
- 13. <u>Ko Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, <u>Jun Yasumoto</u>, Kanami Mori-Yasumoto, Mitsuru Jimbo, Takenori Kusumi, Shugo Watabe, Mechanisms underlying carbon dioxide fixation by marine microorganisms, International Marine Biotechnology Conference, Baltimore, Maryland, USA, 28 August -2 September, 2016, Oral.
- 14. Ko Yasumoto, Mina Yasumoto-Hirose, Jun

Yasumoto, Takenori Kusumi, Kanami Mori-Yasumoto, Mitsuru Jimbo and Shugo Watabe, Mechanisms involved in carbon dioxide fixation by microorganisms, Ofunato International Workshop, 24-25 August, 2016, Ofunato, Iwate, Japan, Oral.

- 15. 安元 剛,坂田 剛,小柳総香,神保 充, 安元 純, 廣瀬美奈,渡部終五,シアノ バクテリアの光合成とポリアミンの関 わり,第 18 回マリンバイオテクノロジ ー学会,平成 28 年 5 月 28 ~ 29 日,北海 道大学函館キャンパス(北海道函館市), 口頭.
- 16. <u>Ko Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, <u>Jun Yasumoto</u>, Kanami Mori-Yasumoto, Mitsuru Jimbo, Takenori Kusumi, Shugo Watabe, Biogenic polyamines capture CO₂ and accelerate extracellular bacterial CaCO₃ formation, 7th World Fisheries Congress, Busan, Korea, 23-27 May, 2016, Poster.
- 17. <u>Ko Yasumoto</u>, Mina Yasumoto-Hirose, <u>Jun Yasumoto</u>, Kanami Mori-Yasumoto, Mitsuru Jimbo, Takenori Kusumi, Shugo Watabe, Biogenic polyamines capture CO₂ and accelerate extracellular bacterial CaCO₃ formation, The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, Hawaii, USA, 15-20 December, 2015, Oral.
- 18. <u>安元</u>剛,末弘宗滉,飯島真理子,神保充,廣瀬美奈,<u>安元純</u>,渡部終五,海洋生物の石灰化に Polyamine 生合成および輸送体阻害剤が及ぼす影響,第 17回マリンバイオテクノロジー学会大会,2015年5月30日-5月31日,東京海洋大学(東京都港区),口頭.
- 19. <u>安元</u>剛 ポリアミン・二酸化炭素を捕捉する生体物質・,第3回慶応有機化学若手シンポジウム,2015年5月9日,慶応義塾大学矢上キャンパス(神奈川県横浜市),口頭(招待講演).

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕 ホームページ等 https://www.kitasato-u.ac.jp/mb/

6. 研究組織

(1)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

(2)研究分担者

坂田 剛 (SAKATA, Tsuyoshi) 北里大学・一般教育部・講師 研究者番号: 60205747

安元 純 (YASUMOTO, Jun) 琉球大学農学部地域農業工学科・助教 研究者番号:70432870

(3)連携研究者 なし

(4)研究協力者

廣瀬美奈(HIROSE Mina) 一般社団法人トロピカルテクノプラス 研究員・博士(薬学)

飯島真理子(IIJIMA Mariko) 北里大学大学院・海洋生命科学研究科 博士課程

篠塚翔太(SHINOZUKA Shota) 北里大学大学院・海洋生命科学研究科 修士課程

窪田梓(KUBOTA Azusa) 北里大学大学院・海洋生命科学研究科 修士課程