

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：32663

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05835

研究課題名(和文) 超深海性ヨコエビの高水圧耐性機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of high pressure resistance mechanism of the deepest sea amphipods

研究代表者

小林 英城 (Kobayashi, Hideki)

東洋大学・バイオ・ナノエレクトロニクス研究センター・客員研究員

研究者番号：40399564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：カイコウオオソコエビは、水深8000mより深い所に棲息する深海性ヨコエビである。本研究では、カイコウオオソコエビ外骨格について解析を行った。その結果、通常の甲殻類と同様に結晶性炭酸カルシウムの存在が確認できた。カイコウオオソコエビは、炭酸塩補償深度(約5000m)よりも深い所に生息しているため、結晶性炭酸カルシウムは溶解するはずである。そのため、何らかの保護機構が存在することが予想された。そこで、外骨格表面について特性X線回折を行った。その結果、アルミニウムが外骨格表面を覆い、保護していることがわかった。アルミニウムは、海底堆積物からグルコノラクトンで抽出していたことも判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義は、カイコウオオソコエビの深海適応機構の一つが解明されたことにある。また、アルミニウムを生物が利用した報告はなく、カイコウオオソコエビが初めての例であった。さらに、2という低温、100MPaという高水圧下において海底堆積物からアルミニウムを抽出できる物質を発見した。社会的意義は、地球温暖化ガス発生量2位の冶金産業において、エネルギーを使わず、鉱物からアルミニウムを抽出できる方法を示したことにある。カイコウオオソコエビのグルコノラクトンによるアルミニウム抽出は、鉱物から低温、弱酸性下で可能であり、環境負荷が非常に低かった。今後の地球温暖化対策の一つとして期待できる。

研究成果の概要(英文)：Hirondellea gigas is a deep-sea amphipod that lives in the sea bottom where is deeper than 8000 m. In this study, we analyzed the exoskeleton of Hirondellea gigas. As a result, the presence of crystalline calcium carbonate was confirmed as in ordinary exoskeleton of crustaceans. Since H. gigas inhabits deeper than the carbonate compensation depth (about 5000 m), crystalline calcium carbonate should dissolve in the sea. Therefore, it was expected that some kind of protection mechanism would exist to protect crystalline calcium carbonate in the exoskeleton. Then, characteristic X-ray diffraction was performed on the surface of the exoskeleton. As a result, it was found that aluminum covers and protects the exoskeleton surface. It was also found that aluminum was extracted from seafloor sediments with gluconolactone.

研究分野：海洋生物学

キーワード：カイコウオオソコエビ 外骨格 結晶性炭酸カルシウム 炭酸塩補償深度 アルミニウム グルコノラクトン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マリアナ海溝チャレンジャー海淵等、水深8000mより深い所に棲息するカイコウオオソコエビは、ヨコエビの一種である。しかし、ヨコエビ等の甲殻類は、外骨格の維持に結晶性炭酸カルシウムを用いる。一方、炭酸塩は水深が深くなると水圧により溶解することが知られている。溶解し始める水深は、炭酸塩補償深度と呼ばれ、水深約5000mである。深くなればなるほど溶解速度が高くなるため、カイコウオオソコエビの外骨格維持に炭酸カルシウム以外が利用されている可能性がある。そこで、カイコウオオソコエビ外骨格について研究を行った。

2. 研究の目的

本研究では、カイコウオオソコエビの超深海適応機構の解析を行った。超深海に生息するカイコウオオソコエビは、結晶性炭酸カルシウムが存在しない海底で、なぜ骨格を維持できるのか、わかっていない。実際、マリアナ海溝チャレンジャー海淵に棲息する有孔虫は、結晶性炭酸カルシウムを利用せず、有機物のみで殻を構成していた。そこで、カイコウオオソコエビ外骨格を解析し、炭酸カルシウムの有無や状態を解析し、外骨格維持に何が利用されているのか、明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

マリアナ海溝チャレンジャー海淵、小笠原海溝、日本海溝から採取したカイコウオオソコエビを試料として用いた。なお、これらカイコウオオソコエビは、全て *H. gigas* であることをサイトクロームオキシダーゼ遺伝子配列から確認している。

カイコウオオソコエビを洗浄せずに、外骨格を特性X線回折にて解析し、各種元素分析を行った。また、結晶性の物質の有無について、カイコウオオソコエビ外骨格を乾燥・粉碎後、粉体X線結晶回折を行い、結晶性の物質を検討した。

4. 研究成果

(4-1) カイコウオオソコエビ外骨格の解析

捕獲したカイコウオオソコエビ外骨格を走査電子顕微鏡・特性X線回折にて解析した結果、カルシウム原子の存在が明らかとなった(図1)。カルシウムはカイコウオオソコエビ外骨格全体に広がり、特に頭部に数多くのピークが見つかった。頭部は特に硬度が高く、ある程度の強度が認められた。

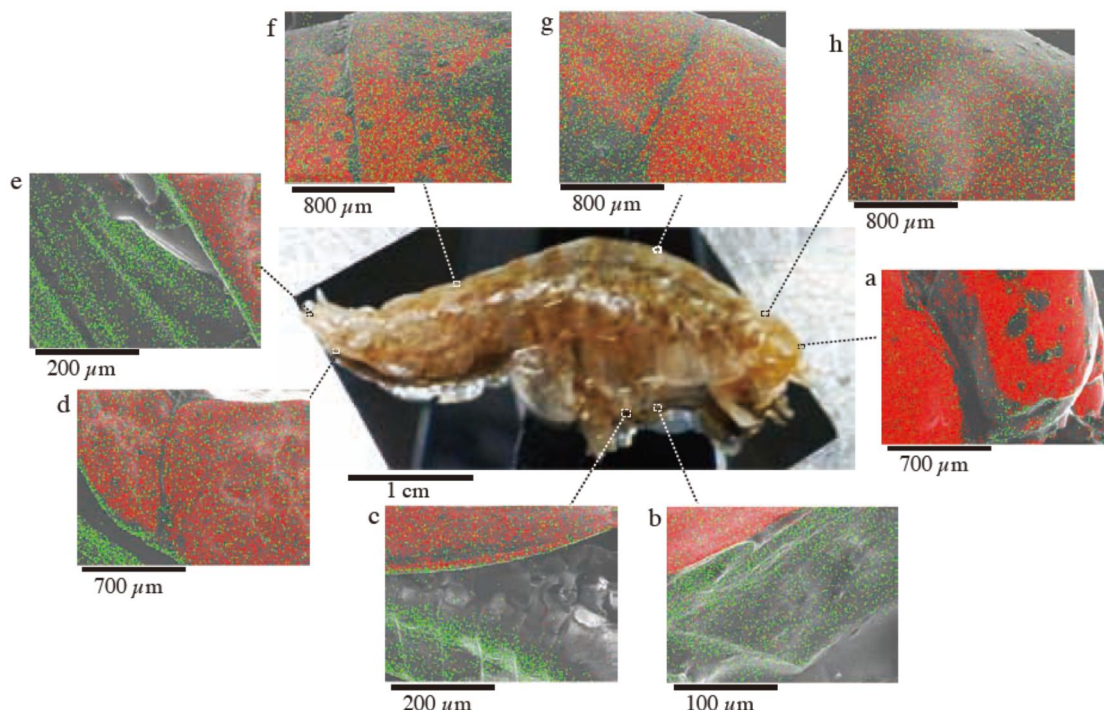
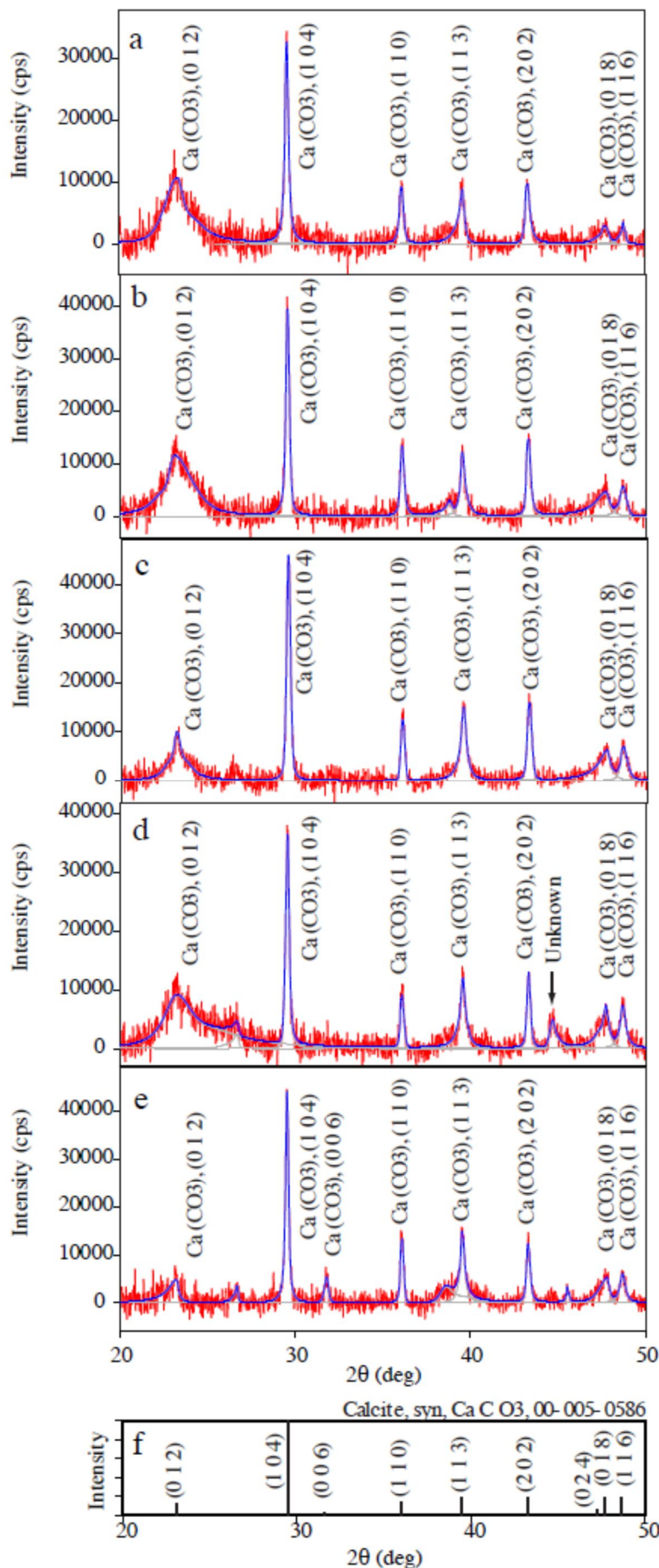


図1 カイコウオオソコエビ外骨格の特性X線回折
赤がカルシウム、緑がアルミニウムを示す

さらにカイコウオオソコエビ5個体の外骨格(a-d)を外科的に分離後、乾燥・粉碎して乾燥粉



(4-2) アルミニウム抽出剤の同定

アルミニウムは、海水中にはほとんど存在しないため、カイコウオオソコエビがどのようにアルミニウムを取得したのかについて、分析を行った。一般にアルミニウムは鉱物に多く含ま

体試料を作成した。外骨格乾燥粉体試料について、粉体X線回折を行った。その結果、三晶系炭酸カルシウム（カルサイト）のピーク(1 0 4), (1 1 0), (1 1 3), (2 0 2)(0 1 8), (1 1 6)（青印）と同じ位置にピークが重なった。したがって、カイコウオオソコエビ外骨格に含まれるカルシウムは結晶性炭酸カルシウムであることがわかった（図2）。カルサイトは、一般的に甲殻類に含まれる結晶性のカルシウムである。カイコウオオソコエビが、炭酸塩補償深度より深い所に生育しながらも、結晶性カルシウムを保持していた。一方で、(9 1 2)のピークは明確なピークとしては現れず、一部アモルファス状態となっていることも予想された。なお、全ての結晶性炭酸カルシウムが一部アモルファス化しているのか、またはアモルファスの炭酸カルシウムと結晶性炭酸カルシウムが共存しているのか、については不明である。

さらに、図1の結果から、外骨格にはアルミニウムも存在していることがわかった。アルミニウムは、弱アルカリ性の海水(pH 7.8-8.0)中では水酸化アルミニウムとして存在する。水酸化アルミニウムは、海水の中では白色のゲル（アルミゲル）として存在する。アルミゲルは粘着性のゲルで、以前は胃の粘膜を保護するため、風邪薬や頭痛止めに配合されていた。したがって、アルミゲルがカイコウオオソコエビの外骨格を覆うことで結晶性炭酸カルシウムを保護し、高水圧の影響を和らげていることが予想された。なお、外骨格について化学的なアルミニウム定量実験を行ったところ、アルミニウムが存在していることが確認できた。アルミニウムの検出は内臓等からはほとんど認められなかった。図2粉体X線回折の結果各ピークから、結晶性炭酸カルシウムと同定

れており、海底堆積物の粘土鉱物にも含まれている。内臓残物の解析から、カイコウオオソコエビは海底堆積物を食べていることが分かっている。したがって、海底堆積物に含まれている粘土鉱物からアルミニウムを抽出していると予想された。そこで、カイコウオオソコエビの体液を硫酸アンモニウム沈澱により、タンパク質成分と非タンパク質成分に分画した。各成分について、海底堆積物と混ぜて、温度と圧力を生息環境の2、100 MPaに合わせ、人工海水中で2時間経過させた。その結果、非タンパク質成分を混ぜた場合、アルミニウムの溶出が確認できた(図3)。非タンパク質成分は、多くの小分子有機物・無機物が含まれている。

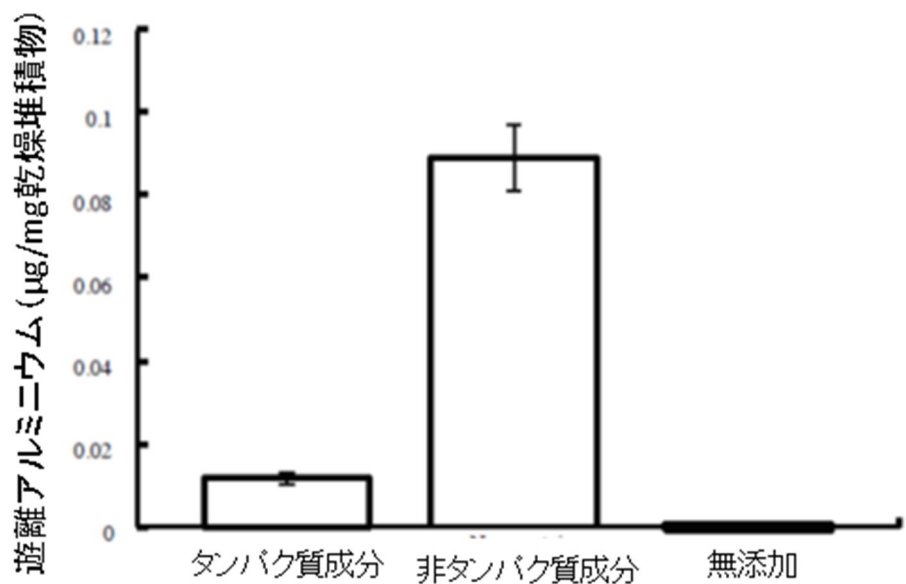
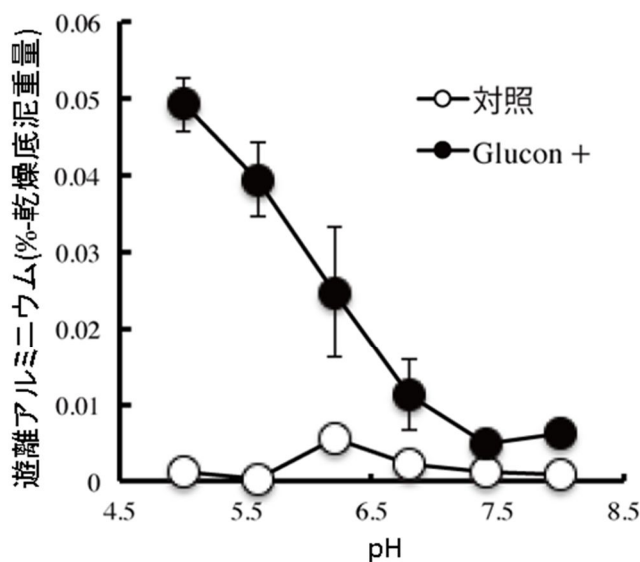


図3 カイコウオオソコエビの体液によるアルミニウムの抽出

さらに非タンパク質成分について解析を進めた結果、体液中に含まれるグルコン酸ナトリウムが、海底堆積物からアルミニウムを抽出していることが明らかとなった。グルコン酸ナトリウムが、アルミニウムを抽出できる条件は、酸性のpHだった(図4)。酸性の場合、グルコン酸ナトリウムは、分子内結合によりグルコノラクトンに変化する。したがって、海底堆積物からアルミニウムを抽出できる物質は、グルコノラクトンであることがわかった。



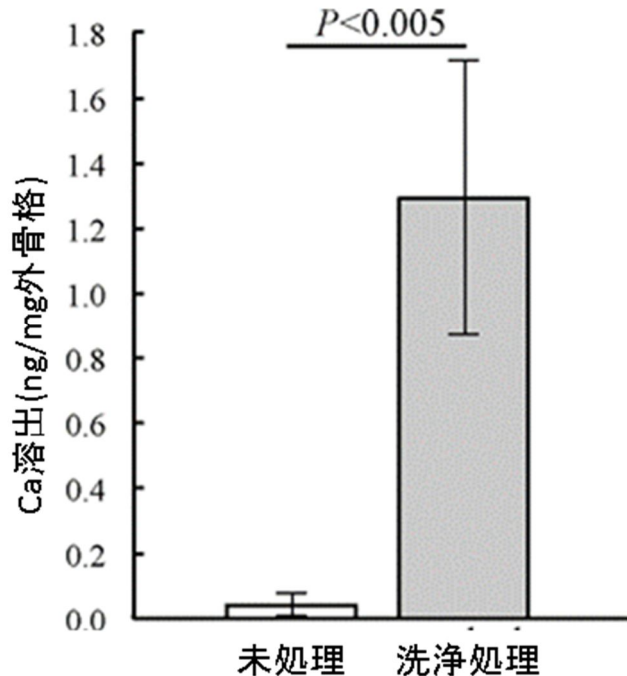
使用鉱物: マリアナ海溝チャレンジャー海淵の海底堆積物
 実験条件: 2°C, 100 MPa, 1 h, 25 mM緩衝液
 グルコン酸ナトリウムを10 mM添加または無添加

図4 グルコノラクトン(グルコン酸ナトリウム)による海底堆積物からのアルミニウム抽出
 グルコン酸ナトリウム添加(●)と添加しない対照(○) 各5サンプルを定量
 海底堆積物中の粘土鉱物は、アルミノシリケートがほとんどである。アルミノシリケートの結晶から、グルコノラクトンがアルミニウムを抽出してきたと考えられた。また、カイコウオオソコエビ内臓内pHは消化酵素であるセルラーゼの反応至適pH 5.5付近であることが予想される。アルミニウム抽出実験でも、pH 5.5付近でアルミニウムが抽出された。したがって、カイコウオオソコエビが海底堆積物を食した際、アルミニウムが抽出されることが予想された。

EDTA を始めとするほとんどの金属イオンキレート剤は、アルカリ性で機能する。酸性で機能するグルコノラクトンは、これまでの金属キレート剤とは、全く異なる作用機序が考えられる。

なお、以前行ったカイコウオオソコエビのメタボローム解析でも、グルコン酸（グルコノラクトン）が確認されており、本研究の結果と矛盾は無かった。

(4 - 3) アルミゲルの保護作用の検証



カイコウオオソコエビの結晶性炭酸カルシウム維持に、アルミゲルが関与しているか検討を行った。カイコウオオソコエビ外骨格表面に存在するアルミゲルは、超純水を使って洗浄すると、容易に剝がれることが確認できている。そこで、超純水で洗浄し、アルミゲルを除去した外骨格について、高水圧下でカルシウムが溶解するか否かについて検討を行った。洗浄した外骨格試料と洗浄しない対照、それぞれ5サンプルずつ用意し、24時間、2、10 MPaの人工海水中で実験を行った。その結果、アルミゲルを除去した外骨格から、カルシウムの遊離が認められた(図5)。アルミゲルが高水圧による結晶性炭酸カルシウムの分解を阻害し、外骨格の維持を行っていることが明らかとなった。外骨格にはワックスエステルも多く含まれているが、アルミゲルとの関連は分かっていない。

図5 高水圧に対する外骨格からのカルシウムの遊離
洗浄処理にて、外骨格のアルミゲルを除いた。

(4 - 4) 本研究のまとめ

カイコウオオソコエビの超深海適応機構の一つは、海底堆積物からグルコノラクトンを利用して、アルミニウムを抽出し、アルミゲルとして、炭酸カルシウムを保護することであった。結晶性炭酸カルシウムは、甲殻類にとって骨と同様の機能があり、形態維持に必要な物質である。なお、グルコノラクトンは、グルコースから1-グルコースオキシダーゼにて合成される。

我々はこれまで、カイコウオオソコエビが特異なセルラーゼを有し、海底に落ちてきた流木を分解し、グルコースを生産していることを報告している。カイコウオオソコエビが大量にグルコースを保持していることも分かっている。そのため、グルコノラクトンの生産も容易であると考えられる。カイコウオオソコエビのセルラーゼは、消化酵素であると同時に、深海適応に必要なアルミニウム抽出剤の原料を供給していることとなった。超深海環境にカイコウオオソコエビが適応できた要因の一つは、進化の過程で特異なセルラーゼの獲得に成功したことによると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kobayashi Hideki, Shimoshige Hirokazu, Nakajima Yoshikata, Arai Wataru, Takami Hideto	4. 巻 14
2. 論文標題 An aluminum shield enables the amphipod Hironellea gigas to inhabit deep-sea environments	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0206710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0206710	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------