

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06193

研究課題名(和文) 藻類のD-アスパラギン酸の生理的役割および合成経路の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the physiological role and synthetic pathway of D-aspartic acid in algae

研究代表者

横山 雄彦 (YOKOYAMA, Takehiko)

北里大学・海洋生命科学部・講師

研究者番号：60296431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：真核生物に稀なD-アスパラギン酸(D-Asp)がテレティア節に属する海藻を除くホンダワラ科の海藻および珪藻*Asterionellopsis glacialis*から見つかっている。*Asterionellopsis glacialis*を低酸素状態にするとL-AspとともにD-Aspも減少するため、D-Aspは低酸素条件下におけるエネルギー源となっている可能性がある。この結果はアカガイで認められているD-Aspの動態と同様の結果であった。アカガイではアスパラギン酸ラセマーゼによりL-AspからD-Aspが合成されていることが明らかにされているが、藻類におけるD-Asp合成酵素は不明のままである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

真核生物に稀な物質であるD-Aspの生理機能や代謝機構の研究は主に動物で行われている。植物における知見はほとんどないが、D-Aspはホンダワラ科の海藻で認められている。本研究では微細藻類で初めて、珪藻*Asterionellopsis glacialis*に他の微細藻類の200倍以上のD-Aspが認められていることを発見し、他の珪藻を含む微細藻類にはほとんど認められないことを明らかにした。珪藻においてD-Aspは低酸素条件下におけるエネルギー源となっていると示唆される結果を得たことは、植物において未解明なD-Aspの役割およびその代謝機構を解明していくための第一歩として学術的に大変意義がある。

研究成果の概要(英文)：D-aspartic acid (D-Asp), which is rare in eukaryotes, has been found in seaweeds belonging to the Sargassum family except those belonging to the Teretia section and in the diatom *Asterionellopsis glacialis*. When *Asterionellopsis glacialis* is hypoxic, both L-Asp and D-Asp decrease, suggesting that D-Asp is an energy source under hypoxic conditions. This result was similar to the change of D-Asp observed in the blood shell. Although D-Asp is synthesized from L-Asp by aspartate racemase in blood shell, the mechanism of D-Asp synthase in algae remains unknown.

研究分野：水産化学

キーワード：珪藻 アスパラギン酸 ヒジキ ホンダワラ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

D-アミノ酸は L-アミノ酸の鏡像異性体であり、真核生物には存在しないとされてきた。しかし、近年、D-Asp が二枚貝のアカガイに存在し、D-Asp はアスパラギン酸ラセマーゼという酵素によって L-Asp から生合成されていることが動物では初めて明らかにされた。このように動物における知見はいくつかあるものの、植物の D-Asp に関する知見は申請者らの報告以外は見当たらない。

申請者らは三陸周辺の藻類における D-アミノ酸の分布を調べ、ヒジキに D-Asp が他の海藻の 200 倍以上含まれているという興味深い結果を得ている。また、D-Asp がヒジキ自身の中心部に局在していることを明らかにしている。さらに、D-Asp が多量に存在するのはヒジキを含むホンダワラ属の海藻に限られるということも報告している。

以上の学術的背景をもとにした研究課題の核心をなす学術的「問い」は、『なぜ真核生物には存在しないとされてきた D-アミノ酸が、限られたごく一部の藻類には多量に存在しているのか』ということである。

2. 研究の目的

申請者らは三陸周辺の海藻における D-アミノ酸の分布を調べ、ヒジキには D-Asp が多量に含まれているということを見い出している。陸上植物では D-Asp が多量に存在しているという報告はなく、ヒジキなどホンダワラ属の一部の海藻は、本来なら真核生物が利用しないはずの D-Asp を蓄積している稀な種であると言える。したがって、これらの藻類は植物における D-Asp の役割および由来を研究するうえで、最適な実験材料と考えられる。限られたごく一部の藻類に多量に存在している『D-Asp の生理的役割および合成経路の解明』が本研究の目的である。

3. 研究の方法

微細藻類における D-Asp の分布

申請者らが海藻の D-Asp の分布を調べた結果、多量に存在するのはホンダワラ属の海藻に限られることが示唆されていた。ただし、D-Asp が全く検出されないホンダワラ属の海藻もあったため、存在理由がわからないままであった。申請者らがホンダワラ属の海藻を「節」に従って分類したところ、『ホンダワラ属の海藻には基本的に D-Asp が存在するが、その中で例外的にテレティア節に属する海藻には存在しない』ということが明らかになった。すなわち、海藻では進化の系統樹に従って D-Asp が存在していると推察された。ホンダワラ属の海藻は褐藻であるが、緑藻および紅藻からは D-Asp は全く検出されていない。

一方、微細藻類からは珪藻 *Asterionellopsis glacialis* において唯一多量の D-Asp を見い出している。本種に近い種は珪藻 *Asteroplanus karianus* という種のみで、日本近海では他には見当たらない。微細藻類はこれまで 20 種ほどしか調べていないため、*A. karianus* を含む珪藻を中心に微細藻類における分布を調べ、海藻と同様に『進化の系統樹に従って D-Asp が存在する』という仮説を証明する。

藻類における D-Asp の役割の解明

申請者らはヒジキを用いた予備的実験において、様々な条件下における D-Asp の変動を調べ、D-Asp は L-Asp と共に低酸素下で著しく減少し、酸素が十分に存在する状態に戻ると L-Asp が先に、次いで D-Asp が回復することを認めている。ヒジキは潮間帯に生育しており、干潮時には完全に空気中に露出する。冬になると干潮の時間帯が夜間になり光合成ができないことと、海藻は水がなければ呼吸速度が著しく低下するため、その間は低酸素状態に置かれると推測される。以上の結果をふまえて、申請者らは『D-Asp が低酸素下でのエネルギー源として利用される』と推測している。ヒジキで得ている知見をもとに、無菌培養した *A. glacialis* を用いて低酸素下における D-Asp の変動を確認し、藻類における D-Asp の役割の一端を明らかにしたい。

藻類における D-Asp の合成経路の解明

低酸素の予備的実験は暗条件下で D-Asp の存在しない人工海水中で行ったため、D-Asp の増減が海水からの取り込み/放出によるものとは考えられず、また、短時間で大きな増減が起こったこと、独立栄養生物である藻類は一般に海水中から無機物を取り込み、有機物であるアミノ酸を合成していることなどを総合的に考えると、ヒジキに認められる D-Asp は藻体自身で合成されている可能性が高いと予想される。

しかし、アカガイで認められているアスパラギン酸ラセマーゼ活性は認められず、藻類における D-Asp 合成酵素は不明のままである。本研究では、藻類に存在する D-Asp 合成酵素を明らかにし、D-Asp の代謝機構の一端を明らかにしたい。

4. 研究成果

真核生物に稀な D-アスパラギン酸 (D-Asp) がテレティア節に属する海藻を除くホンダワラ科の海藻および珪藻 *A. glacialis* から見つかっている。 *A. glacialis* を低酸素状態にすると L-Asp とともに D-Asp も減少するため、D-Asp は低酸素条件下におけるエネルギー源となっている可能性がある。この結果はアカガイで認められている D-Asp の動態と同様の結果であった。アカガイではアスパラギン酸ラセマーゼにより L-Asp から D-Asp が生合成されていることが明らかにされているが、珪藻において様々な D-Asp 合成経路を調べたが、藻類における D-Asp 合成酵素活性は認められなかった。したがって、藻類における D-Asp 合成経路は不明のままである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takehiko Yokoyama, Masaharu Tokuda, Tsuyoshi Yamazaki	4. 巻 87
2. 論文標題 Possibility of geographical traceability of <i>Lucensosergia lucens</i> shrimp based on element content measured through inductively coupled plasma mass spectrometry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 893-903
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12562-021-01551-4	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 -

1. 著者名 瀬戸彩映里, 秋田晋吾, 横山雄彦, 菊地則雄, 鳶田智	4. 巻 13
2. 論文標題 紅藻アマノリ類2種における遊離アミノ酸量と培養塩濃度条件との関係	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Algal Resources	6. 最初と最後の頁 103-106
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 Amano Masafumi, Amiya Noriko, Yokoyama Takehiko	4. 巻 121
2. 論文標題 Immunohistochemical localization of GnRH-immunoreactive cell bodies and fibers in the nerve ganglion of <i>Perinereis aibuhitensis</i> (Annelida: Polychaeta)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Histochemica	6. 最初と最後の頁 234 ~ 239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.acthis.2019.01.001	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2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 横山雄彦・徳田雅治・山崎剛
2. 発表標題 駿河湾産および台湾産サクラエビの元素含量
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nanami Mizusawa, Daisuke Ouchi, Kanta Nishimura, Toshio Ito, Atsuko Nagaoka, Nobuhiko Ueki, Yoko Matsuoka, Jianrong Wan, Takehiko Yokoyama and Shugo Watabe
2. 発表標題 Metagenomic and metabolomic analyses of squid shiokara, a typical and traditional fermentation seafood in Japan
3. 学会等名 国際水圏メタゲノムシンポジウム2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 三上 浩司、横山 雄彦 他	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Globe Edit	5. 総ページ数 355
3. 書名 アマノリ生物学の最前線	

〔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