

平成 22 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究 B

研究期間：2008～2009

課題番号：20710008

研究課題名（和文）大気二酸化炭素濃度の増加が炭酸カルシウム合成生物に与える影響の解明

研究課題名（英文）Evaluation for the effects of increased atmospheric CO₂ on marine calcifiers

研究代表者

栗原 晴子 (KURIHARA HARUKO)

琉球大学・亜熱帯島嶼科学超域研究推進機構・特命助教

研究者番号：40397568

研究成果の概要（和文）：大気二酸化炭素濃度の増加に伴い海では、海水のpHおよび炭酸カルシウム飽和度の低下する酸性化現象が予測されている。近年、海水が酸性化するとウニや貝類など炭酸カルシウムを合成する生物の殻や骨の形成不全が引き起こされることが明らかにされつつあるが、その影響の機構は未だ解明されていない。本研究では異なるpH環境下でウニ幼生を飼育し、骨の形成に関わる遺伝子の発現への影響を探った結果、Ca²⁺の輸送に関わる遺伝子がpHに依存して低下することが明らかになった。従って、酸性化は遺伝子レベルで生物の石灰化機構に影響を及ぼすことが初めて示唆された。

研究成果の概要（英文）：Increasing atmospheric CO₂ is predicted to decrease the seawater pH and calcium carbonate saturation state and acidify the oceanic seawater. Recent studies revealed that ocean acidification cause malformed shells and spicules on marine calcifiers including sea urchins and bivalves. However, the mechanism of these effects is still unclear. In this present study, we evaluated the expression of skeletogenesis related genes on sea urchins larvae cultured under different pH conditions. As a result we cleared that the expression of the gene known to be related on Ca²⁺ transportation decreased with pH decrease. There results first demonstrated that ocean acidification can affect the calcification process of marine organisms at a molecular biological level.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：環境学、環境動態解析

キーワード：海洋酸性化

1. 研究開始当初の背景

人間の活動により大気中の二酸化炭素 (CO₂) 濃度が産業革命以来急激に増加しているが、増加した CO₂ が海水中に溶け込むに従って、海水の pH が低下する「海洋酸性化」現象が生じつつある。現在の海洋表層の pH は平均 8.1 と、既に産業革命時に比較して 0.1 低下しており、今世紀末までには現在の大気 CO₂ 濃度 (380ppm) の 2 倍以上の濃度 (780 - 1,000ppm) にまで増加し海水の pH は 7.7 まで低下、さらに 200 年後には CO₂ 濃度は 2,000ppm まで増加し pH は 7.4 まで低下すると予測されている (Wickett & Caldeira, 2003)。海水の pH が低下すると、海水中の炭酸カルシウム飽和度が低下するため、将来大気 CO₂ 濃度の増加に従い海洋表層で CaCO₃ 未飽和海域が出現し、ウニ類、貝類、サンゴ類など多くの CaCO₃ 合成生物の殻や骨が溶解する可能性が指摘されている (Orr et al. 2005)。一方で、過飽和海水中でも海水の CO₂ 濃度の増加はサンゴや貝類の成体で CaCO₃ 合成率を低下させることが最近示された (Kleypas et al. 2004)。さらに申請者は、海水の CO₂ 濃度増加は CaCO₃ 合成率を低下させるだけでなく、幼生期の骨格形成及び形態に直接影響することを、ウニ類や貝類で明らかにした。従って海水の CO₂ 濃度増加による CaCO₃ 合成への影響は化学的反応だけではなく、何らかの生物学的機構が関わっていると考えられる。海水の酸性化は細胞内 pH の低下を引き起こし、細胞内の酵素活性や遺伝子発現に直接影響する可能性がある。そこで本研究では、将来予測される海洋環境が CaCO₃ 合成に与える影響の予測、およびその影響機構の解明を分

子生物学的手法により解明することを試みる。

2. 研究の目的

環境と生物は密接に関り合いながら動的平衡状態を保って来た。しかし今日の人間活動により環境は自然変動とは比較にならないスピードで変化しつつあり、これまで保たれて来た平衡状態が崩壊する可能性が危ぶまれる。従ってこのような急激な人為的環境変動が生物に与える影響を正確に把握し、将来地球生態系全体がどのように変動していくのかを明らかにすることは、我々人類の存続にも関る重要な問題である。本研究では、現在その影響が最も危ぶまれている大気 CO₂ 濃度増加に注目して、大気 CO₂ 濃度の増加が引き起こす海水の酸性化が CaCO₃ 合成生物の CaCO₃ 合成に与える影響を形態学的、生理学および分子生物学的手法を用いて検討し、将来の海洋環境が CaCO₃ 合成生物に与える影響の正確な予測及びその影響機構の解明を目的とする。

3. 研究の方法

(1) バフンウニの卵を現在、今世紀末および200年後に予測される環境下で飼育し、骨片形成への影響を様々な発生段階において探る

(2) 高CO₂環境下で飼育されたウニの幼生における骨片形成関連遺伝子の発現への影響を探る。実験1に示した各海水条件下で飼育した胚よりRNAを抽出し、ランダムプライマーを用いて逆転写し、骨片の伸長に関与していると考えられるタンパク SM50 (Peled-Kamar et al. 2002) および SM30

(Kitajima et al. 1996, Wilt 2002) に特異的なプライマー(Kitajima et al. 1996) を用いて定量的RT-PCRを行う。

(3) SM30およびSM50に加え、新たにCa²⁺の輸送に関与していると考えられるMSP130 得意的プライマーを、既に報告されている他種のウニの配列を元に設計し、定量的PCRを行い、その発現への影響を探る。

4. 研究成果

(1) バフンウニの受精卵を現在 (CO₂ 濃度 380ppm)、今世紀末 (CO₂ 濃度 1,000ppm) および 200 年後 (CO₂ 濃度 2,000ppm) の海水下で、4 椀プルテウス幼生に発生するまで飼育した。その結果、高 CO₂ 濃度海水中で飼育したウニの幼生は骨片形成を行うものの、対照区に比較して骨片のサイズや形態に異常が見られる個体が多く観察された。

(2) 実験 (1) にて異なる三つの条件下で飼育されたウニ幼生から RNA を抽出した。抽出した RNA からランダムプライマーを用いて DNA へと逆転写を行った。逆転写された DNA に対して、SM50 および SM30 得意的プライマーを用いて、PCR を行いその発現量を解析した。その結果、図 1 に示す通り、CO₂ によるこれら遺伝子の発現への影響は見られなかった。

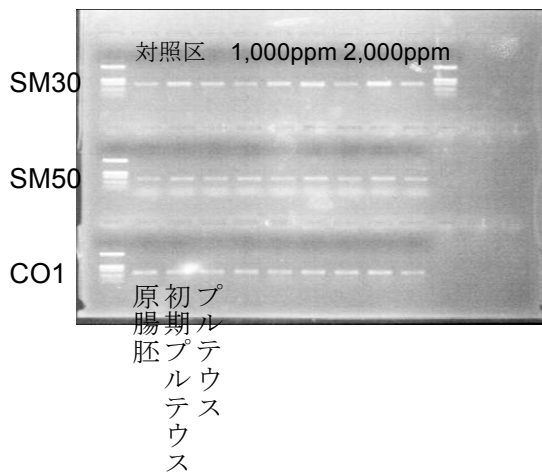


図 1. 対照区 (CO₂ 濃度 380ppm) , 1000ppm および 2, 000ppmCO₂ 濃度海水中にて、原腸胚、

初期プルテウス胚、プルテウス胚に発生する間で飼育された幼生における骨片形成関連遺伝子 (SM30, SM50) の発現量。

(3) Ca²⁺の輸送に関与していると考えられる MSP130 遺伝子は *Paracentrotus lividus* および *Strongylocentrotus purpuratus* では報告されているものの、バフンウニではまだ報告されていない。従って、まずは *S. purpuratus* にて報告されている MSP130 遺伝子の配列を元に MSP130 得意的プライマーの設計を行った。バフンウニから全ゲノムを抽出し、MSP130 得意的プライマーにて増幅された断片の全塩基配列を決定した結果、SpMSP130 相同遺伝子の存在が明らかとなった。さらに実験 (2) において、逆転写された DNA を用いて PCR を行った結果、骨片の形成が開始直前の原腸胚期および形成が開始される初期プルテウス胚では異なる CO₂ 環境で飼育された幼生間では MSP130 遺伝子の発現に差は見られない一方で、骨片の伸張が盛んなプルテウス幼生胚では、CO₂ の濃度に依存してその発現量が低下することが解明された (図 2)。

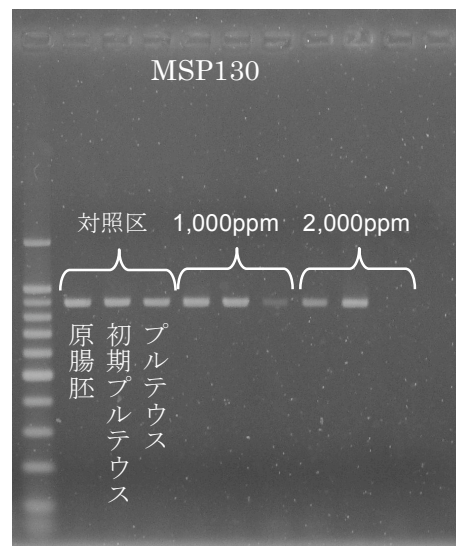


図 2. 対照区 (CO₂ 濃度 380ppm) , 1000ppm および 2, 000ppmCO₂ 濃度海水中にて、原腸胚、初期プルテウス胚、プルテウス胚に発生する間で飼育された幼生における骨片形成関連遺伝子 (MSP130) の発現量。

これらの研究の成果より、① 高CO₂環境がウニ幼生の骨片形成に対して、特にプルテウス幼生期に影響を及ぼすこと、② 大気CO₂濃度の増加が直接生物の遺伝子発現に影響を及ぼすこと、③ 影響の機構にはカルシウムイオンの輸送に関わる遺伝子の発現量の低下が関わっていること、さらに④ その影響が濃度依存的であり、さらに形態的に最も影響が強くと見られるプルテウス幼生期での発現が影響を受けることが明らかにされた。これまで海水中の二酸化炭素濃度の上昇が石灰化機構に及ぼす主な原因として炭酸カルシウム飽和度の低下という化学的機構が中心となっていたと考えられてきたが、本研究より生物が遺伝子レベルにおいても影響を受け、その結果殻の形成異常などの影響を受けることが明らかとなった。

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 5 件)

1. Ishimatsu A and Kurihara H. (2010) Effects of CO₂-induced ocean environmental changes on marine life: implications for aquaculture. Proceedings of ASEAN-SEAFDEC, in press
2. Kurihara, H. (2008) Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates. Marine Ecology Progress Series, 373: 275-284. 査読有り
3. Kurihara, H., Matsui, M., Furukawa, H., Hayashi, M. and Ishimatsu, A. (2008) Long-term effects of predicted future seawater CO₂ conditions on the survival and growth of the marine shrimp *Palaemon pacificus*. Journal of Experimental Biology and Ecology, 367: 41-46. 査読有り
4. Kurihara, H., Asai T., Kato, S., Ishimatsu, A. (2008) Impacts of elevated pCO₂ on the early development of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Aquatic Biology, 4: 225-233. 査読有り
5. Kurihara, H. and Ishimatsu, A. (2008) Effects of elevated CO₂ on the life cycle of copepod *Acartia tsuensis*. Marine Pollution Bulletin, 56, p1086-1090. 査読有り

[学会発表] (計 13 件)

1. 石松惇, 栗原晴子 [Effects of CO₂-induced ocean environmental changes on marine life -Implications for aquaculture.] SEAFDEC Regional Forum "Regional Technical Consultation for Sustainable Aquaculture in Southeast Asia towards 2020". 17-19 March 2010, Bangkok, Thailand 口頭発表
2. 石松惇, 栗原晴子 [Impacts of ocean acidification on the benthic invertebrates] Symposium of Conservation and protection of the environment and resource on East Asian Estuaries, Nagasaki Japan 18 Dec 2009 口頭発表
3. 栗原晴子 「海洋酸性化による生物影響へこれまでの研究および今後の研究の方向性について」 日本サンゴ礁学会, 沖縄本部公民館, 2009年11月27-29 口頭発表
4. 福田適子, 栗原晴子, 石松惇 「海洋酸性化と温暖化がクマノミ (*Amphiprion clarkii*) の初期発生に及ぼす影響」 日本サンゴ礁学会, 沖縄本部公民館, 2009年11月27-29 ポスター発表
5. 栗原晴子 「Impacts of ocean acidification on invertebrates」 Meeting of South Pacific Ocean acidification and the change if the marine ecosystem, Tokyo, Japan 06 Nov. 2009

6. 栗原晴子, 石松惇 「海洋酸性化とは？」日本海洋学会, 東京 (東京大学), 2009年4月5-9 口頭発表
7. 栗原晴子, 川口創, 石松惇, 殷瑞, 浅井隆匡, 福田適子 [海洋酸性化が水産生物にもたらす影響] 日本水産学会、東京 (東京海洋大学)、2009年3月27-31、口頭発表
8. R Yin, H. Kurihara, A Ishimastu [Synergistic effects of increased carbon dioxide and temperature on gonadal development and physiological status of sea urchin] 日本水産学会、東京 (東京海洋大学)、2009年3月27-31、ポスター発表
9. 浅井隆匡, 栗原晴子, 石松惇 [Impacts of ocean acidification on bivalves] 日本水産学会、東京 (東京海洋大学)、2009年3月27-31、口頭発表
10. Kurihara, H., R. Yin, A. Ishimatsu [Sea urchin in an acidic and warm high-CO₂ world] Echinoderms in a Changing World 13th International Echinoderm Conference (Tasmania, Australia) 5-9 Jan. 2009 口頭発表
11. Kurihara, H., R. Yin, A. Ishimatsu 「Reproductive physiology of sea urchin in a high-CO₂ world」 The Ocean in a High-CO₂ World, Monaco, 2008年10月7日
12. 栗原晴子, 殷瑞, 石松惇 「大気CO₂濃度増加による酸性化及び温暖化がウニの生殖生理に与える影響」日本ベントス学会日本プランクトン学会合同大会、熊本 (熊本県立大学)、2008年9月4-7日
13. 栗原晴子 「過去、現在、未来における海洋化学環境と炭酸カルシウム合成生物の進化」日本進化学会、東京 (東京大学)、2008年8月22-24日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

<http://web.mac.com/harukoku/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
栗原 晴子 (KURIHARA HARUKO)
琉球大学 ・ 亜熱帯島嶼科学超域研究推進
機構 ・ 特命助教
研究者番号：40397568

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：