

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03077

研究課題名（和文）海洋生物に共通した新規骨格形成メカニズムの提唱

研究課題名（英文）Proposal for a novel mechanisms involved in formation of calcium carbonate in marine calcifying organisms.

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） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ミドリイシサンゴなどの海洋生物におけるCaCO₃形成機構を詳しく調査するとともに、CaCO₃形成反応に着目し、硬骨格を持つ海洋生物の成長環境について検討した。研究結果から、ポリアミン輸送体が石灰化部位のpH上昇に寄与していること、高CO₂条件下では、サンゴの骨格形成とポリアミンによる石灰化反応との間に高い相同性が存在することが判明した。また、蛍光リン酸プローブを開発し、これが稚サンゴの石灰化部位に細胞間隙を通じて迅速に吸着し、骨格形成を阻害することもわかった。さらに、石灰質の底質に蓄積されるリン酸塩の量と稚サンゴの密度との間に相関関係があった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋生物の石灰化機構の詳細は明らかになっていないにもかかわらず、石灰化に伴いpHが低下しCO₂が放出されると考えられてきた。しかし、本研究では石灰化部位のpHは逆に上昇しており生体ポリアミンの関与が示唆され、海洋生物の骨格形成はCO₂固定となることが推定される。本研究による知見は、海洋生物の地球の炭素循環との関わりを正しく理解し、海洋生態系保全に大きく貢献する可能性を持っている。また、サンゴの石灰化反応がリン酸塩に対して非常に脆弱である理由と、石灰質の底質に蓄積したリン酸とサンゴの白化や稚サンゴ密度に影響を及ぼすことから新たな陸域負荷対策につながることを期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted detailed investigations into the mechanisms of CaCO₃ formation in marine organisms such as Acropora corals, with a focus on the CaCO₃ formation reactions, and examined the growth environments of marine organisms possessing hard skeletons. Our research revealed that polyamine transporters contribute to the elevation of pH levels at the sites of calcification, and there is a high degree of homology between coral skeletal formation and calcification reactions due to polyamines under high CO₂ conditions. Additionally, we developed a fluorescent phosphate probe (FITC-AA), which was found to rapidly adsorb to the skeletons of juvenile corals through intercellular spaces, inhibiting skeletal formation. Moreover, our study demonstrated a correlation between the amount of phosphates accumulated in calcareous sediments and factors such as density of juvenile corals.

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：石灰化 CO₂固定 サンゴ ポリアミン

様式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

1. 研究開始当初の背景

大気中の CO₂ 濃度上昇と気候変動の関係が注目されて久しいが、大気中の CO₂ 濃度は、原始大気の 30 気圧下で 97% から現大気の 1 気圧下で 0.04% まで大きく減少している。大気中から減少した CO₂ の行方の半分は、カンブリア紀以降に一齐に誕生した有孔虫、円石藻、貝、サンゴなどの石灰化を行う海洋生物が起源の炭酸塩堆積物である。残り半分は光合成生物が起源の石炭や石油などの化石燃料である。つまり、原始大気に膨大にあった CO₂ は石灰化および光合成といった生命活動によって減少したのである。しかし、海洋生物の石灰化機構に関しては未解明な点が多い。海洋生物の石灰化に伴い pH が低下し CO₂ 放出となるとの推定もあり、石灰化反応は CO₂ 固定との認識は得られていない。しかし、海洋生物の石灰化に伴う pH 上昇が相次いで報告されている。この pH 上昇機構は不明であるものの、pH が低下しないならば石灰化反応は CO₂ 固定と考えるのが妥当である。さらに、我々は生体ポリアミンという生体内に豊富存在する物質が、CO₂ と反応して石灰化を促進することを見出した。興味深いことに、この反応は 30~40°C で最も効率が良く、熱帯地域の炭酸塩堆積物の分布と一致する。本研究では、ポリアミンによる石灰化反応を手がかりに、海洋生物の石灰化機構を検証する。また、サンゴ礁海域においては石灰質の底質のリン酸塩が蓄積しており、サンゴなどの骨格形成に悪影響を及ぼすことが懸念されている。表層海水のリン酸塩濃度は非常に低濃度であるが、リン酸塩の化学的性質を考慮すれば、石灰質の底質共存下の海水中ではリン酸塩は殆ど溶存できず、陸域由来のリン酸塩は石灰質の底質に素早く蓄積しているはずである。

2. 研究の目的

本研究は、応募者らが新たに発見したポリアミンと CO₂ の高い親和性という化学的知見から「海洋生物の石灰化 (CaCO₃ 形成) 反応においてポリアミンが CO₂ 濃縮および pH 調整に寄与している」との仮説を元に研究を行う。また、石灰質の底質に蓄積したリンの量とサンゴとの関連を調べる系を作ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ポリアミン輸送体および生合成阻害剤が海洋生物の石灰化部位の pH 上昇とポリアミン量に及ぼす影響

サンゴは、細胞外の石灰化母液と呼ばれる部位で骨格形成を行うが、CaCO₃ 形成を行うには、溶液の pH を上昇させる必要がある。その為、石灰化母液の pH は周りの海水と比較して pH が 0.5 ~ 1.0 程度高くなる。しかし、石灰化母液の局所的な pH 上昇の詳細な機構は明らかにされていない。我々はこの石灰化に伴う pH 上昇に、生体内に豊富に存在する塩基性物質であるポリアミンが寄与すると考えた。本研究では、化学合成したポリアミン輸送体および生合成阻害剤を実験対象とする海洋生物の飼育海水に添加し、pH 蛍光指示薬 8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonic acid (HPTS) を用いた pH イメージング法により、石灰化母液の pH 上昇に及ぼす影響を検証した。また、最近フナコシから発売された生体内のポリアミンを可視化できる蛍光プローブ (PolyamineRED) を用いて、石灰化部位におけるポリアミンの局在とポリアミン輸送体および生合成阻害剤がポリアミン量に及ぼす影響を検証した。

(2) 高 CO₂ 条件での海洋生物とポリアミンによる石灰化反応の相同性の検証

ポリアミンによる石灰化反応は、既存の方法とは異なり、炭素源が空気中の CO₂ である為、空気中の CO₂ 濃度と石灰化速度に明確な相関がある。ミドリイシ属の稚サンゴを用いて骨格形成反応の定量的な評価手法を報告してきた。本研究では、異なる CO₂ 条件 0.04~0.2% で稚サンゴを飼育し、骨格形成量を比較するとともに、異なる CO₂ 条件下でのポリアミンによる石灰化反応 CaCO₃ 反応と比較した。ポリアミン溶液を、0.04~1% CO₂ 雰囲気下でポリアミンを CO₂ を反応させ ¹H-NMR 測定を行いカルバメート体への変換率と反応速度を比較した。さらに ¹³C-NMR 測定を行い、カルバメート体の水和によって生成された重炭酸イオン・炭酸イオンの総量と比率を算出することを試みた。

(3) 海洋生物の骨格形成にリン酸塩が及ぼす影響の可視化

開発した FITC (緑色蛍光標識試薬, Fluorescein isothiocyanate isomer-I) をラベルしたリン酸塩試薬 (FITC-AA) を、海水に添加し、ミドリイシサンゴの石灰化部位に到達する時間を測定する。海水に含まれるリン酸塩が骨格に到達する時間をから石灰化部位が細胞内か細胞外かを調べる。

(4) 蓄積型栄養塩が海洋生物の骨格形成および生残率に及ぼす影響

これまで陸域由来のリン酸塩が石灰質の底質に蓄積しており、底質を採取した場所ごとに吸着しているリン酸塩量が異なることを予備実験で明らかにしている。石灰質の底質を採取するのは、沖縄県南部の市街地や農地が比較的多い地域と、比較的人口密度が少ない沖縄県北部とする。各地で採取した石灰質の底質は、乾燥後、篩分けを行い、0.5 ~ 1 mm の大きさに揃えた底質 10 g と共に実験対象とする海洋生物の飼育を行う。約 1 か月飼育した後、詳細な観察を SEM 観察で行う。

【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

4. 研究成果

(1) ポリアミン輸送体および生合成阻害剤が海洋生物の石灰化部位の pH 上昇とポリアミン量に及ぼす影響

本実験では、ポリアミンの生合成阻害剤 DFMO と輸送体阻害剤 PTI がサンゴの石灰化母液(SCM)の pH_{SCM} と細胞内のポリアミン量に及ぼす影響を検証したところ、PTI を添加した場合、pH_{SCM} 上昇が阻害され、ポリアミン量も減少傾向を示した。DFMO を添加した場合、pH_{SCM} 上昇には影響はなかったが、ポリアミン量は有意に減少した。これらの結果から、サンゴの SCM の pH 上昇には、ポリアミン輸送体が寄与していることが示唆される。

(2) 高 CO₂ 条件での海洋生物とポリアミンによる石灰化反応の相同性の検証

0.04 ~0.2% の CO₂ 条件でサンゴ稚ポリプの底面の石灰化面積を着底 3 日後に比較したところ、0.04% では底面の 80% で骨格が形成されたのに対し、0.1% では 50%、0.2% では 18% しか底面の骨格形成は進行しなかった。飼育 2 週間後の骨格重量(μg)の比較でも、0.04% では平均が約 40 μg であったのに対し、0.1% では 23 μg、0.2% では 10 μg であった。このように CO₂ 濃度が高くなるほどサンゴの骨格形成は顕著に減少することがわかった。また、ポリアミンによる石灰化反応においても 0.04% での石灰化量を 100% とした場合、0.5% では 55.6%、1% では 21.6% まで減少した。水溶液中でのポリアミンと CO₂ の反応を調べたところ、反応させる CO₂ 濃度が高いほうが炭酸イオン・重炭酸イオンの総量は多く、反応も早く進行するが、溶液中の pH は低下するため、重炭酸イオンの割合が高くなることが明らかになった。サンゴの骨格形成との間に高い相同性が確認できた。

(3) 海洋生物の骨格形成にリン酸塩が及ぼす影響の可視化

FITC-AA を、海水に添加し、ミドリイシサンゴの石灰化部母液と骨格に到達する時間を測定したところ、わずか数分以内に石灰化母液および骨格に到達することが明らかになった。詳細な観察の結果、石灰化母液を取り囲む細胞間の隙間が非常に大きく顕微鏡で顕微鏡でも確認することができた。つまり、サンゴの骨格へは細胞間隙を通して到達していることが明らかになり、リン酸塩への高い脆弱性の理由が明らかになった。

(4) 蓄積型栄養塩が海洋生物の骨格形成および生残率に及ぼす影響

稚サンゴの加入量との底質のリンの関係を検証したところ、底質のリンの値が高い米須地下ダムからの地下水が一部湧出している米須海岸で底質のリンは 72.3 μM と高値を示し、平均 15.1±1.1 μM で地下ダムの水質の影響を受けていることが示唆される。一方、底質のリンの値が低い慶座地下ダムが溶出している沿岸部で底質のリンは 2.6 μM で米須海岸と比較して低かった。また、白水川河口の具志頭海岸で底質のリンは平均 17.1±2.5 μM で高く、雄樋川河口の港川海岸の底質のリンも平均 7.5±0.3 μM と高かった。白水川河口付近にはエビ養殖場や畜産場がありその影響が示唆される。雄飛川も 12.6 μM と高い濃度のリンが検出され流量も多く付近の港川海岸まで影響が及んでいると考えられる。稚サンゴ加入量と底質のリンも相関を調べたところ高い相関が見られた。

上記本研究による新たな知見は、海洋生物の骨格形成が CO₂ 固定となることを示唆しており、サンゴ礁の保全が大気 CO₂ 削減に貢献しうることを示す知見である。本課題で確立した底質のリンの定量的な評価は、これまで表層海水サンプルでは検出できなかった陸域由来のリン酸塩の時空間分布の把握が可能であるため、今後のサンゴ礁海域でのモニタリングで測定すべき項目に加わることが期待される。今後沿岸域に生息するサンゴ群集への負荷を軽減するための方策を検討する材料として活用されることが期待される。

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 1件）

1. 著者名 Iijima, M., Yasumoto, J., Mori-Yasumoto, K., Yasumoto-Hirose, M., Iguchi, A., Suzuki, A., Mizusawa, N., Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, & Yasumoto, K.	4. 巻 1
2. 論文標題 Visualisation of Phosphate in Subcalicoblastic Extracellular Calcifying Medium and on a Skeleton of Coral by Using a Novel Probe, Fluorescein-4-Isothiocyanate-Labelled Alendronic Acid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Marine Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1 - 7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10126-022-10115-1	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 Iijima Mariko, Yasumoto Jun, Iguchi Akira, Koiso Kiyomi, Ushigome Sayaka, Nakajima Natsuki, Kunieda Yuko, Nakamura Takashi, Sakai Kazuhiko, Yasumoto-Hirose Mina, Mori-Yasumoto Kanami, Mizusawa Nanami, Amano Haruna, Suzuki Atsushi, Jimbo Mitsuru, Watabe Shugo, Yasumoto Ko	4. 巻 8
2. 論文標題 Phosphate bound to calcareous sediments hampers skeletal development of juvenile coral	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsos.201214	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 Yasumoto-Hirose Mina, Yasumoto Ko, Iijima Mariko, Nishino Tomohiko, Ikemoto Eiko, Nishijima Miyuki, Numako Chiya, Matsuyama Tohey, Shizuri Yoshikazu, Kogure Kazuhiro, Watabe Shugo	4. 巻 88
2. 論文標題 Mg-rich calcite-producing marine bacterium <i>Pseudovibrio</i> sp. isolated from an ascidian in coral reefs at Okinawa, Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 625 ~ 634
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12562-022-01627-9	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 6件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 安元剛
2. 発表標題 サンゴの石灰化機構からみた陸域負荷の影響
3. 学会等名 2021年度日本サンゴ礁学会大会第24回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安元剛（北里大・海洋生命）・飯島真理子（産総研・地質情報）・井口亮（産総研・地質情報）・鈴木淳（産総研・地質情報）・安元純（琉大・農）・中村崇（琉大・理）・酒井一彦（琉大熱生研）・廣瀬美奈（トロピカルテクノプラス）・天野春菜・水澤奈々美・神保充・渡部終五（北里大・海洋生命）
2. 発表標題 サンゴ稚ポリプに対する CO ₂ +リン酸塩の複合ストレス実験
3. 学会等名 第21回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安元 剛
2. 発表標題 バイオミネラルリゼーションを利用したカーボンリサイクルの可能性
3. 学会等名 第16回バイオミネラルリゼーションワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安元 剛
2. 発表標題 バイオミネラルリゼーションによる CO ₂ 固定の可能性
3. 学会等名 カーボンリサイクルファンド / オンライン講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安元 剛
2. 発表標題 バイオミネラリゼーションを利用した 新たなCO2固定法開発
3. 学会等名 令和4年度日本水産学会春季大会シンポジウム「次世代へつなぐ水産研究の道程～企業・公設研究所・大学の最先端研究～」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯島真理子, 安元 剛, 井口 亮, 水澤奈々美, 安元 純, 酒井一彦, 鈴木 淳, 岩崎晋弥, 木元克典, 廣瀬美奈, 神保 充, 渡部終五
2. 発表標題 蓄積型栄養塩のサンゴ骨格阻害メカニズムと 影響評価法の構築
3. 学会等名 第23回日本サンゴ礁学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安元 剛, 井口 亮, 飯島真理子, 安元 純, 窪田 梓, 財津 桂, 神保 充, 渡部終五
2. 発表標題 サンゴの石灰化と温度耐性に対する生体ポリアミンの関与
3. 学会等名 第23回日本サンゴ礁学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安元 剛
2. 発表標題 サンゴ礁域におけるサンゴ類の骨格形成と石灰質の底質
3. 学会等名 日本生態学会大会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯島真理子、安元 剛、安元 純、井口 亮、中村 崇、酒井一彦、廣瀬美奈、水澤奈々美、神保 充、渡部終五
2. 発表標題 蓄積型栄養塩が稚サンゴの骨格形成と生育に及ぼす影響
3. 学会等名 令和3年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯島真理子、安元剛、安元純、井口亮、中村崇、酒井一彦、廣瀬美奈、水澤奈々美、鈴木淳、神保充、渡部終五
2. 発表標題 蓄積型栄養塩の地域間比較と稚サンゴの骨格形成への影響
3. 学会等名 第21回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安元 剛、飯島真理子、井口亮、鈴木淳、安元純、中村崇、酒井一彦、廣瀬美奈、天野春菜、水澤奈々美、神保充、渡部終五
2. 発表標題 サンゴ稚ポリブに対するCO ₂ + リン酸塩の複合ストレス実験
3. 学会等名 第21回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 下川花也、紫波俊介、安元 純、飯島真理子、廣瀬美奈、井口 亮、安元 剛、水澤奈々美、天野春菜、神保 充、渡部終五
2. 発表標題 沿岸域底質がシラヒゲウニに及ぼす影響について
3. 学会等名 第21回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Mariko Iijima, Jun Yasumoto, Akira Iguchi, Takashi Nakamura, Kazuhiko Sakai, Mina Yasumoto-Hirose, Kanami Mori-Yasumoto, Nanami Mizusawa, Atsushi Suzuki, Haruna Amano, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe, Ko Yasumoto
2. 発表標題	Phosphate bound to calcareous sediments in coastal area inhibit skeletal formation of juvenile coral
3. 学会等名	日本地球惑星科学連合2021年大会 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Ko Yasumoto, Jun Yasumoto, Mariko Iijima, Akira Iguchi, Mina Hirose Yasumoto, Kanami Mori-Yasumoto, Michio Suzuki, Kenji Moriyasu, Satoshi Katsumata, Shugo Watabe
2. 発表標題	Comparison in the calcification rate between in vivo skeletal formation in juvenile corals and in vitro aragonite formation in biogenic polyamine solution at various CO2 levels
3. 学会等名	AGU fall meeting Chicago, IL (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	安元 剛、大野良和、鈴木道生、森安賢司、勝又 聡、植田 直幸、井口 亮、安元 純、廣瀬美奈。
2. 発表標題	バイオミネラリゼーションを模したCO2鉱物化研究
3. 学会等名	第17回バイオミネラリゼーションワークショップ
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	安元 剛、廣瀬美奈
2. 発表標題	海洋生物のバイオミネラリゼーションを模した新規CO2鉱物化技術の開発
3. 学会等名	令和4年度日本水産学会春季大会 水産学技術賞受賞者講演 (招待講演)
4. 発表年	2023年

1. 発表者名 Ko Yasumoto, Mariko Iijima, Jun Yasumoto, Ryogo, Takada, Takashi Nakamura, Akira Iguchi, Atsushi Suzuki, Mina Hirose-Yasumoto, Nanami Mizusawa, Mitsuru Jimbo, Shugo Watabe
2. 発表標題 The terrestrial impact evoked by the land-originated phosphate adhering to coastal calcareous sediments on coral reef ecosystem in Sekisei Lagoon
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2022年大会（国際学会）
4. 発表年 2022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	井口 亮 (Iguchi Akira) (50547502)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・地質調査総合センター・主任研究員 (82626)	
研究分担者	安元 加奈未 (Yasumoto-Mori Kanami) (70412393)	東京理科大学・薬学部薬学科・講師 (32660)	
研究分担者	安元 純 (Yasumoto Jun) (70432870)	琉球大学・農学部・助教 (18001)	

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
---------	---------