

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2013

課題番号：22651005

研究課題名(和文) 海洋有機物動態を解く鍵物質「グリコカリックス」の提案・機能検証

研究課題名(英文) Suggestion and functional investigation of key material "glycocalyx" in marine organic matter

研究代表者

田上 英一郎 (Tanoue, Eiichiro)

名古屋大学・地球水循環研究センター・教授

研究者番号：50133129

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 420,000円

研究成果の概要(和文)：海洋有機物からグリコカリックスを検出し、その化学的性質から海洋有機物動態に果たす役割の解明を本研究の目的である。糖衣と訳されるこのグリコカリックスは、海洋に供給された有機物を分解から保護し、安定的に存在させる役割を果たすと考えられる。本研究では、グリコカリックス分子を検出する試みを行い、糖鎖を主要構造に持ち、中および短鎖のペプチド基を有するために海水中では、単純タンパク質と同様の化学的挙動を示す分子を発見した。海洋有機物プールの維持機構に、この分子が中心的役割を果たしている可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We attempted to detect "glycocalyx" in marine organic matter, and the purpose of this study is the elucidation of the role to achieve for a marine organic matter pool from the chemical property of glycocalyx. Glycocalyx should protect dissolved and particulate organic matter in seawater from the decomposition and play an important role to make them exist stably. We observed some molecules indicating the chemical behavior like the simple protein to have a peptide group of the short and mid chains with main structure with a carbohydrate chain. These molecules may play a main role in the preservation mechanism of organic matter pool in marine ecosystem.

研究分野：物質循環

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：有機地球化学 溶存有機物 物質循環 糖鎖 懸濁態有機物

1. 研究開始当初の背景

海洋有機物は、陸上の植生および土壌有機物と並んで、地球表層に存在する三大還元型炭素プールの一つであり、その規模は炭素換算で大気中の二酸化炭素全量に匹敵する。しかしながら、どのような有機物がどのようなメカニズムを経て、海洋有機物プールとして蓄積しているのか？この疑問への答えは無い。本研究は、海洋生物が生産する複合糖質に着目する。特にグリコカリックスと呼ばれる複合糖質の複合体に着目する。海洋有機物プールの維持機構に、このグリコカリックスが中心的役割を果たしている可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、海洋有機物からグリコカリックスを検出し、その化学的性質から海洋有機物動態に果たす役割の解明を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、2種類のグリコカリックスを想定する。1つは、生細胞が分泌するグリコカリックス(糖衣)であり、もう一つはバイオフィルムマトリックスを構成するグリコカリックスである。両者とも複合糖質の複合体であることは同じだが、前者は「生きた」有機物で複雑ではあるがリジッドな構造を持つ糖ポリマー、後者は「死んだ」有機物で分解産物も含む不定形ゲルとして存在していると考えている。グリコカリックスを構成する複合糖質は特徴的な化学的性質及び組成を有している。複合糖質の化学的性質を基礎に海洋有機物を分画・精製し、精製画分から個々の複合糖質を分離し、特有な成分を検出すればグリコカリックスの存在と機能に関する情報が得られる。

グリコカリックスを形成する糖タンパク質・糖脂質・プロテオグリカンなどの複合糖質は、1)粘着性を有し、2)荷電しており、3)反応性に富む官能基が近接して存在している。これらの化学的特性は、海洋の物質循環において、以下の3つのプロセスにおいて重要な役割を果たすことが推定される。これらのプロセスとグリコカリックスとの関わりを解明する。

- 課題(1) デトリタス生成への貢献
(短い時間スケールの物質循環での役割)
- 課題(2) 有機凝集体生成への貢献
(有機物の鉛直輸送での役割)
- 課題(3) 腐植様溶存有機物生成への貢献
(長い時間スケールの物質循環での役割)

4. 研究成果

グリコカリックスの検出を試みる上で、まず懸濁態有機物および溶存有機物中の複合糖質の化学型を明らかにする試みを行った。

その結果、海洋全深度において、糖タンパク、糖脂質を中心とした複合糖質は、1)尿素可溶、2)SDS可溶、3)SDS/尿素不溶、の3画分にて回収することができた。

本抽出法を用いた場合、この画分には単純タンパク質が分画される。本研究において再現よく、SDS/尿素不溶画分にペプチドおよび糖が検出された。このことから、懸濁態有機物中の結合型アミノ酸には、タンパク質とは全く異なる化学型が存在することがわかった。すなわち糖鎖を主要な構造に持ち、中・短鎖のペプチドが構成されている化学型を持つ物質が海水中に存在することを発見した。これを踏まえて、グリコカリックスの分画・精製を行った。ガラスファイバーフィルターにて懸濁態有機物を除去した海水を限外濾過し、高分子溶存有機物を濃縮採取した。フィルターに捕捉された懸濁態有機物ならびに脱塩・乾燥した高分子溶存有機物について、SDS-尿素溶液を用いて抽出を行い、「不定形ゲル(バイオフィルム)を形成するグリコカリックス」との「糖衣として存在するグリコカリックス」の分画を行った。FACE法を適用して、複合糖質の糖鎖を検出した結果、両方の画分について糖鎖が検出された。TFMS法を用いて、N-結合型およびO-結合型糖鎖を遊離させて、FACE法を適用したところ、泳動像上に明確なバンドが得られた。また、高分子溶存有機物画分から脂質を抽出しNMR法を用いて、その化学構造を見た結果、糖脂質が確認された。TFMS法を用いて、N-結合型およびO-結合型糖鎖を遊離させて、FACE法を適用したところ、2~23糖の多糖であることが分かった。この結果は、懸濁態有機物ならびに高分子溶存有機物中にバイオフィルムならびに糖衣としてグリコカリックスが存在する可能性を示唆している。

溶存有機物中の複合糖質については、蛍光誘導体化法と電気泳動法を組み合わせた分析法を開発した。溶存有機物中に2糖から23糖までの複合糖質が存在していることが分かった。これらの糖鎖は、従来海水に酸加水分解処理を行うことで検出可能となる単糖類の存在することから、海水には多糖類が存在することが指摘されていたが、具体的に糖鎖を構成する単糖の個数までは知られていなかった。海洋の溶存有機物中の多糖類そのものを世界で初めて検出したことは、大きな成果である。

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4件)

Hara, S.: "Taxonomy, Ecology and Phylogeny of Choanoflagellates (Review)". Bulletin of the Plankton Society of Japan, 59: 35-47. (2012), 査読有

Mostofa, KMG; Wu, FC; Liu, CQ; Vione, D; Yoshioka, T; Sakugawa, H; Tanoue, E.: "Photochemical, microbial and metal complexation behavior of fluorescent dissolved organic matter in the aquatic environments" GEOCHEMICAL JOURNAL, 45(3), 235-254, (2011), 査読有

Tsukasaki, A., Tanoue, E.: "Chemical qualification of electrophoretically detectable peptides and sugar chains in oceanic surface particulate organic matter" Marine Chemistry 119. 33-43 (2010), 査読有

Youhei Yamashita, Rose M. Cory, Jun Nishioka, Kenshi Kuma, Eiichiro Tanoue, Rudolf Jaffe: "Fluorescence characteristics of dissolved organic matter in the deep waters of the Okhotsk Sea and the northwestern North Pacific Ocean" Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography 57. 1478-1485 (2010), 査読有

〔学会発表〕(計11件)

西田民人、塚崎あゆみ、加古正代、田上英一郎: "海洋の溶存脂質に関する研究 IV-海水中での存在状態と蓄積メカニズム-" 第30回有機地球化学会. (20130818). 岡山県倉敷芸文会館(岡山県倉敷市)

原成光、小池勲夫、福田秀樹: "SYBR-Green positive 粒子" 日本海洋学会春季大会(20130321) 東京海洋大学(東京都品川区)

西田民人、塚崎あゆみ、加古正代、田上英一郎: "海洋の溶存脂質に関する研究 III-海水中での脂質分子の挙動-" 日本海洋学会秋季大会. (20120822). 北海道大学

(北海道札幌市)

西田民人、塚崎あゆみ、加古正代、田上英一郎: "海洋の溶存脂質に関する研究 III-海水中での分子量分布と動的挙動-" 第30回有機地球化学シンポジウム. (20120822). 東北大学(宮城県仙台市)

原成光: "改良 Gause 競争モデルによる食物連鎖系" 日本海洋学会春季大会. (20110908). 東京大学(千葉県柏市)

塚崎あゆみ、西田民人、田上英一郎: "海洋懸濁態有機物における糖鎖分析法の検討" 第28回有機地球化学シンポジウム. (20100805). 石油資源開発株式会社長岡鉱業所(新潟県長岡市)

西田民人、塚崎あゆみ、加古正代、田上英一郎: "海洋の溶存脂質に関する研究 II-海水中での分子量分布-" 第28回有機地球化学シンポジウム. (20100805). 石油資源開発株式会社長岡鉱業所(新潟県長岡市)

塚崎あゆみ、西田民人、田上英一郎: "電気泳動による糖鎖分析法の確立と海洋表層懸濁態有機物への適用" 日本海洋学会秋季大会. (20100908). 東京農業大学生物産業学部(北海道網走市)

西田民人、塚崎あゆみ、加古正代、田上英一郎: "海洋の脂質の化学特性に関する研究 海水中での脂質分子の挙動" 日本海洋学会秋季大会. (20100908). 東京農業大学生物産業学部(北海道網走市)

原成光: "Gause 競争モデルの再考" 日本海洋学会秋季大会. (20100908). 東京農業大学生物産業学部(北海道網走市)

塚崎あゆみ、西田民人、田上英一郎: "Chemical characterization of detrital combined amino acids in oceanic surface particulate organic matter" Ocean Sciences Meeting. (20100215). Portland, Oregon, USA

〔図書〕(計1件)

蒲生俊敬、田上英一郎ほか、講談社、海洋有機化学、2013、320

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

アウトリーチ活動

西田民人: 「練習船の教育関係共同利用に関するシンポジウム～練習船の共同利用の現状と展望～」(20120203) 鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

西田民人: 三重大学教育関係共同利用拠点シンポジウム「練習船「勢丸」教育関係共同利用と食文化教育のひろがり」(20121213) 三重大学(三重県津

市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田上 英一郎 (TANOUE, Eiichiro)
名古屋大学・地球水循環センター・特任教授

研究者番号：50133129

(2) 研究分担者

西田 民人 (NISHIDA Tamihito)
名古屋大学・大学院・環境学研究科・助教

研究者番号：50261243