

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月28日現在

機関番号：82706

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2012

課題番号：22684027

研究課題名（和文）石灰質有孔虫のバイオミネラリゼーションの細胞生物学的解明

研究課題名（英文）Intra-cellular environment monitoring to clarify the biomineralization process of calcareous foraminifera

研究代表者

豊福 高志 (TOYOFUKU TAKASHI)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・チームリーダー

研究者番号：30371719

研究成果の概要（和文）：

バイオミネラリゼーションは生物が硬組織を沈着する生物過程である。本研究では海洋の主要な炭酸塩生産者である有孔虫類の石灰化過程について細胞生物学的な解明を目指した。多重染色実験系が確立したカルシウム、pHに加え、マグネシウム、ミトコンドリア、ゴルジ体などを組み合わせた観察を実施した。石灰化中のミトコンドリアプローブの観察など実施した。ラマン顕微鏡の導入によって、生体内で進行する石灰化過程にある結晶を鉱物学的観点から観察ができるようになった点は画期的である。

研究成果の概要（英文）：

The process that some minerals actively precipitated by biology are called as biomineralization. Foraminifera is one of the key calcifyer in marine environment. This study try to clarify the biomineralization process of foraminifera by cell biology. Intra cellular distributions of calcium pH, magnesium ,mito and golgi complex are visualized by fluorescent dyes. Mineralogy of crystals can be decided even during on-going calcification process.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	8,900,000	2,670,000	11,570,000
2011年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2012年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：(分科)地球惑星科学 (細目)層位・古生物学

キーワード：バイオミネラリゼーション、有孔虫、石灰化、カルシフィケーション、古生物学、海洋生物学、地球科学、原生生物

### 1. 研究開始当初の背景

バイオミネラリゼーションは生物が硬組織を沈着する生物過程である。生産された硬組織は防御、切断、浮力調整、バイオセンサーあるいは元素の貯蔵などの幅広い目的に用いられている。生産される鉱物は20以上の元素を用いた60種類以上が知られているが、いずれにせよ生物活動の強い影

響下で沈着するという共通の特徴がある。これらの硬組織は、軟体部に比べ機械的強度が極めて高く、化学的にも安定であるため、化石として堆積物に長期間保存されるものが少なくない。化石は古生物を認識するための直接の証拠であると共に、過去の環境情報とその変遷を記録しているため、古生物学をはじめとする、地球科学を下さ

えする研究対象として重要である。バイオミネラリゼーションは、化石の生産の第一歩でもあるため、その素過程の解明が広く期待されている。

近年、人為起源の二酸化炭素の影響によって全地球的な酸性化が進行しつつあることが国際的な社会問題として広く認知されるようになった。海洋において、生物源炭酸塩は pH のバッファーとして機能する。酸性化した海洋で、石灰化過程が質的・量的にどの程度影響を被るかを考察するためにも、バイオミネラリゼーションの理解に注目が集まっている。

## 2. 研究の目的

本研究ではこれまでの研究をさらに掘り下げ、単細胞生物である有孔虫類が、細胞生物学にどのように石灰化を制御しているか明らかにすることを目的として、生体試料を用いた観察実験を行った。カルシウムの濃集と pH の制御と細胞内小器官（オルガネラ）の働き、あるいは連携によって機能しているかを解明する。

## 3. 研究の方法

本研究の目的を達成するために、これまで確立したカルシウム (Ca)、pH を同時に観察すると同時に細胞内小器官がどのように分布しているかを検討するために、これらの多重染色手法を確立し、生きた有孔虫細胞内でこれらが空間的にどのように関連づけられて分布しているかを調べた。また、蛍光観察と並行して、ラマン顕微鏡を導入し、石灰化の初期からの、結晶形の観察を実施した。

## 4. 研究成果

従来、カルシウムと pH は別々の個体で観察していたために、双方の関係がよくわからなかった。使用する試薬を工夫することで二重染色に成功し、より詳しく石灰化過程の機序がわかってきた(図 1)。有孔虫が石灰化中に観察を行った例を示す。上から微分干渉像、カルシウム像、pH 像である。微分干渉像では、新たなチャンバーの形をした有機膜が観察できる。中段は新たに形成しつつあるチャンバーにカルシウムイオンを含む細胞質が入り込み、カルシウムを更に運び込もうとしているところであると思われる。このように細胞内のカルシウム分布は不均一であり、生物学的に強くコントロールされていることが示唆される。下段の pH 画像では色が pH に対応しており、赤が高い pH (~9)、青が低い pH (~5) をそれぞれ示している。チャンバーを

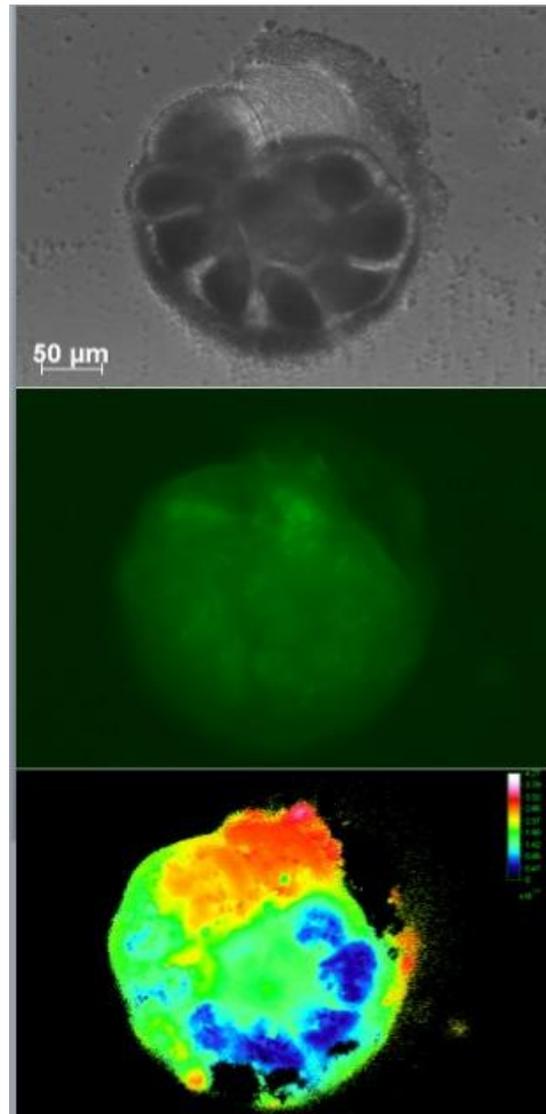


図 1: 石灰化時の様子と細胞内環境

形成している部分で、pH が高いことを示す赤い部分がはっきりと見られる。この観察結果から、有孔虫の細胞内部には、大きな pH 環境勾配が存在していることがわかった。pH が高まった部分では炭酸系の平衡が重炭酸イオンから炭酸イオンにうつり、石灰化に用いられると考えられる。また、石灰化の極初期には石灰化部位で pH が上昇し、細胞内のカルシウムは使用されていないにも関わらず炭酸塩の沈着が認められた。以上の観察結果から、有孔虫は殻を形成するために、海水からカルシウムを取り込み、細胞内の pH 環境を調節することで殻の沈着を制御する、巧妙な仕組みを持っていることがわかった。

有孔虫のマグネシウム（図2緑）の分布はカルシウム（図2赤）とは全く違っており、細胞に広く分布していることがわかった。マグネシウムはミトコンドリアにも多く含まれていることが知られている。上の観察でも、多くの部分はミトコンドリアの分布を示しているものと推測される。

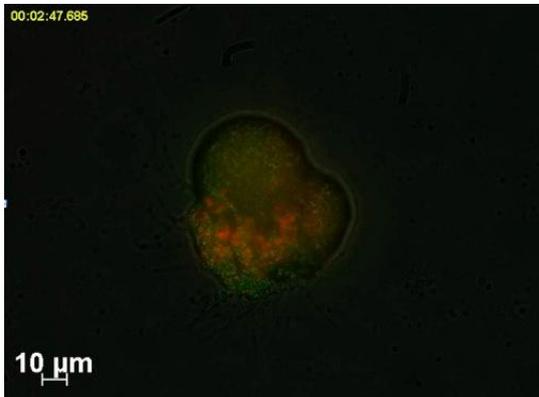


図2:マグネシウムとカルシウムの分布

ラマン顕微鏡観察の結果、石灰化中の結晶を認識できる予察的結果を得た。また、本手法は化石有孔虫を用いた化学分析に係る品質管理にも役立つことがわかった。図3は、化石有孔虫の殻断面でラマン顕微鏡による観察結果を示す。壁孔中に黒い粒子が認められるが、ラマン分析の結果、この粒子は硫化鉄であることが認められた。更に数カ月後に分析をしたところ酸化鉄の信号が得られた。微小領域分析の新たな選択肢として注目されると思われる。

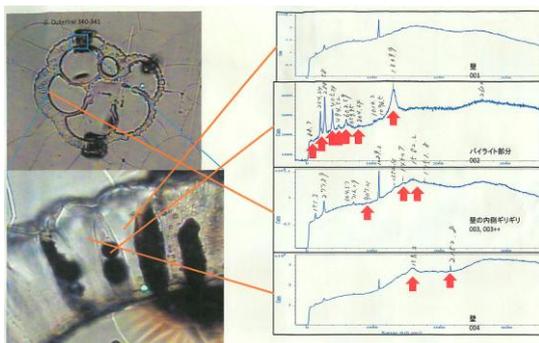


図3:有孔虫殻のラマンスペクトル

##### 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 12 件)

①Koyama, S., Konishi, M., Ohta, Y., Miwa, T., Hatada, Y., Toyofuku, T., Maruyama, T., Nogi, Y., Kato, C., Tsubouchi, T. (2013)

Attachment and Detachment of Living Microorganisms Using a Potential-Controlled Electrode. *Marine biotechnology*, (査読有), DOI: 10.1007/s10126-013-9495-2.

② Tachikawa, K., Toyofuku, T., Basile-Doelscha, I., Delhayec, T. (2013) Micro-scale neodymium distribution in sedimentary planktonic foraminiferal tests and associated mineral phases. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, (査読有), 100, 11-23, DOI: 10.1016/j.gca.2012.10.010.

③Ishimura, T., Tsunogai, U., Hasegawa, S., Nakagawa, F., Oi, T., Kitazato, H., Suga, H., Toyofuku, T. (2012) Variation in stable carbon and oxygen isotopes of individual benthic foraminifera: tracers for quantifying the vital effect. *Biogeosciences Discuss*, (査読有), 9, 5, 6191-6218, DOI: 10.5194/bgd-9-6191-2012.

④Konishi, M., Watsuji, T., Nakagawa, S., Hatada, Y., Takai, K., Toyofuku T. (2012) Effects of hydrogen sulfide on bacterial communities on the surface of galatheid crab, *Shinkaia crosnieri*, and in a bacterial mat cultured in rearing tanks. *Microbes and Environments*, (査読有), 28, 1, 25-32, DOI: 10.1264/jsme2.ME12070.

⑤豊福高志 (2012) バイオミネラリゼーションの可視化 –細胞生物学的に見た有孔虫の石灰化過程-. *Japan Geoscience Letters*, (査読無), 8, 4.

⑥Toyofuku, T., Suzuki, M., Suga, H., Sakai, S., Suzuki, A., Ishikawa, T., de Nooijer, L. J., Schiebel, R., Kawahata, H., Kitazato, H. (2011) Mg/Ca and  $\delta^{18}\text{O}$  in the brackish shallow-water benthic foraminifer *Ammonia beccarii*. *Marine*

*Microplaeontology*, (査読有), 78, 113-120,  
DOI: 10.1016/j.marmicro.2010.11.003.

⑦豊福高志, 野牧秀隆 (2011) 有孔虫の飼育  
実験から探る太古の地球環境. *バイオサイエ  
ンスとインダストリー*, (査読無) 69, 4,  
284-288.

⑧Nomaki, H., Ogawa, N. O., Ohkouchi, N.,  
Toyofuku, T., Kitazato, H. (2010) The role  
of meiofauna in deep-sea benthic food webs  
revealed by carbon and nitrogen stable  
isotope analyses In *Earth, Life, and  
Isotopes* (Eds: Ohkouchi N, Tayasu I, and  
Koba K). *Kyoto University Press*, (査読有),  
119-138.

⑨豊福高志 (2010) アンモニア・ベッカリー  
過酷な環境にも生息. *しずおか自然史*, (査読  
無) 86-87.

⑩豊福高志 (2010) 小さなタイムマシンを開  
く-有孔虫の石灰化過程の可視化-. *生物の科  
学 遺産*, (査読無) 64(5), 78-85.

⑪豊福高志 (2010) 有孔虫～多様な殻を作る  
単細胞生物と海洋～. *第4回JAMSTEC海洋  
と地球の学校 多様性を科学する～海洋と地  
球のツアー～*, (査読無) 71-82.

⑫豊福高志 (2010) 海洋酸性化と生物圏への  
影響. *平成21年度海洋研究開発機構研究報告  
会JAMSTEC2010 地球システムの解明に果  
たすJAMSTECの役割*, (査読無) 8-9.

[学会発表] (計 18 件)

① Toyofuku, T., Ohkawara W. N.,  
Kurasawa, A. Tombi Cruise: an Overview.  
*TOMBI Workshop*, November 22-24, 2012,  
Bordeaux, France.

②Fujii, M., Sakaguchi, A., Murayama, M.,  
Toyofuku, T., Oguri, K., Kawamura, K.  
TOMBI Cruise core description. *TOMBI*

*Workshop*, November 22-24, 2012,  
Bordeaux, France.

③ Toyofuku, T. Calcification, *Field  
Workshop on Living Foraminifera in Japan*,  
Sesoko, Okinawa/Yokosuka, Kanagawa,  
Japan, 15-21 July 2012.

④Toyofuku, T., de Nooijer, L., Nomaki, H.,  
Tsuchiya, M., Oguri, K., Kitazato, H.  
Foraminiferal intracellular environmental  
observation - perspective for  
biomineralization, geochemical proxies for  
past time ocean and ocean acidification.  
*2012 ASLO Aquatic Sciences Meeting*, Otsu,  
Shiga, Japan, 8-13 July 2012.

⑤ van Dijk, I.E.Y., de Nooijer, L.J.,  
Toyofuku, T., Reichart, G.J. Species-specific  
impacts of temperature and seawater  
Mg/Ca on foraminiferal Mg/Ca. *EGU  
General Assembly 2012*, Vienna, Austria,  
22-27 April 2012.

⑥Toyofuku, T., Nomaki, H., Tsuchiya, M.,  
Kitazato, H. Foraminiferal cellular Calcium  
and pH distribution by laboratory  
observation. *EGU General Assembly 2012*,  
Vienna, Austria, 22-27 April 2012.

⑦豊福高志, Lennart J de Nooijer, 野牧秀隆,  
浅井健志, 土屋正史, 倉沢篤史, 三輪哲也,  
北里洋 High-CO<sub>2</sub>実験環境下の細胞内pH観  
察, *古海洋シンポジウム2012*, 東京大学大気  
海洋研究所, 2012年1月6日.

⑧Toyofuku, T., de Nooijer, L. J., Nomaki, H.,  
Tsuchiya, M., Kitazato, H. Culture  
experiment with living foraminifera under  
laboratory high-CO<sub>2</sub> environmental  
condition. *EGU Topical Conference Series,  
7th Alexander von Humboldt International  
Conferene Ocean acidification:  
consequences for marine ecosystems and*

society, Park Royal Penang Resort, Penang, Malaysia, 20-24 June 2011.

⑨ Toyofuku, T., Nooijer, L. J., Nomaki, H., Tsuchiya, M., Kitazato H. Foraminiferal cellular pH control under low pH environment in the laboratory. *JpGU International session*, Makuhari, Chiba, 25 May 2011.

⑩ Toyofuku, T., de Nooijer, L. J., Nomaki, H., Tsuchiya, M., Kitazato, H. Foraminiferal cellular pH control under laboratory high-CO<sub>2</sub> environmental condition. *EGU General Assembly 2011*, Vienna, Austria, 3-8 April 2011.

⑪ 豊福高志, 菅 寿美, 坂井三郎, 鈴木淳, 川幡穂高, 北里 洋 底生有孔虫 *Ammonia beccarii* の Mg/Ca、 $\delta^{18}O$  の水温、塩分指標. 2010年度古海洋シンポジウム, 東京大学大気海洋研究所, 2011年1月6日-7日.

⑫ Kitazato, H., Nomaki, H., Toyofuku, T. Feeding strategies among deepsea benthic foraminifera: Evidences from TEM observations and in-situ experiments for modern deep-sea foraminifera. *International Symposium on Foraminifera FORAMS2010*, Bonn, Germany, 6 September 2010.

⑬ Toyofuku, T., de Nooijer, L. J., Nomaki, H., Tsuchiya, M., Kitazato, H. 2-D pH observation on foraminiferal cell under stable environmental condition. *International Symposium on Foraminifera FORAMS2010*, Bonn, Germany, 6 September 2010.

⑭ 更科 功, 豊福高志, 藤田和彦, 遠藤一佳 石灰質有孔虫の殻内タンパク質の検討. 日本古生物学会2010年年会, 筑波大学, 2010年6月12日.

⑮ Toyofuku, T., de Nooijer, L.J., Nomaki, H., Oguri, K., Tsuchiya, M., Kitazato, H. Intracellular environment of carcaeous foraminifera and biomineralization. *Japan Geoscience Union Meeting 2010*, Makuhari Messe, Chiba, Japan, 23-28 May 2010.

⑯ 林 明子, 豊福高志, 中村利廣, 渡辺友亮 Shape design of BaCO<sub>3</sub> by Mg<sup>2+</sup> effect. 第20回日本MRS学術シンポジウム, 横浜情報文化センター, 2010年12月20日.

⑰ Asai, T., Toyofuku, T., Nomaki, H., Miwa, T. A study of test reconstruction of *Ammonia beccarii* for extreme environmental conditions. 極限環境生物学会, 京都大学宇治キャンパス, 2010年11月15日~16日, p6.

⑱ Asai, T., Toyofuku, T., Nomaki, H., Pressure effect on living shallow water benthic foraminifera. 日本地球惑星科学連合2010年大会, 幕張メッセ国際会議場, 2010年5月23-28日, p. 42.

[その他]

ホームページ等

JAMSTEC 研究者個人ページ

<http://www.jamstec.go.jp/seika/pub-j/ress/toyofuku/index.html>

TWITTER [https://twitter.com/t\\_toyofuku](https://twitter.com/t_toyofuku)

タンブラー

<http://toyofuku.tumblr.com/>

FACEBOOK

<https://www.facebook.com/toyohuka>

セミナー&集中講義

① Toyofuku, T. How the natural time machines are prepared? –some laboratory works on foraminiferal calcification. *Lund University*, Sweden, 27 Nov. 2012.

② 豊福高志 福島大学集中講義. 2012年11月14日.

③ 豊福高志 浜松修学舎高等学校研究紹介, 2012年11月12日.

- ④ 豊福高志 熊本大学集中講義. 2012年10月17日, 18日.
- ⑤ 豊福高志 Foraminiferal intracellular environmental observation –perspective for biomineralization, geochemical proxy for past time ocean and ocean acidification. バイオミネラリゼーションセミナー, 東京大学農学部2号館, 2012年9月24日.
- ⑥ 豊福高志 サイエンスパートナーシッププロジェクト講座. 宇都宮高等学校, 2012年9月11日.
- ⑦ 豊福高志 横浜国立大学集中講義. 2012年7月31日-8月3日.
- ⑧ 豊福高志 海洋酸性化を想定した実内実験, JpGU JAMSTECブース. *JpGU2011*, 幕張メッセ, 2011年5月25日.
- ⑨ 豊福高志 Mg/Ca in calcareous foraminifera from laboratory culture experiment. 熊本大学セミナー, 2011年3月10日.
- ⑩ Toyofuku, T. Revealing Foraminiferal Calcification and Its Impact on trace elemental incorporation. *Alfred Wegener Institute*, Bremerhaven, Germany, 1<sup>st</sup>., September 2010.
- ⑪ Toyofuku, T. Revealing Foraminiferal Calcification and Its Impact on trace elemental incorporation. *Utrecht University*, Utrecht, Netherlands, 30<sup>th</sup>, August 2010.
- ⑫ Toyofuku, T. Intracellular environment of calcareous foraminifera and biomineralization (Invited seminar). *Anger University*, Anger, France, 23<sup>rd</sup>, June 2010.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

豊福 高志 (TOYOFUKU TAKASHI)  
独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・チームリーダー