

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 24 年 6 月 18 日現在

機関番号: 82708

研究種目: 若手研究 (B)

研究期間: 2010~2011

課題番号: 22710083

研究課題名 (和文) 各種汚染底質に生息するゴカイ類の浄化機能の解明と応用

研究課題名 (英文) Elucidation and application of bioremediation ability of polychaetes inhabiting in the various polluted area.

研究代表者 伊藤 克敏 (ITO KATSUTOSHI)

独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所環境保全研究センター・任期付研究員 研究者番号: 80450782

研究成果の概要 (和文): ゴカイ類を用いた海洋底質環境浄化 (バイオレメディエーション) 技術の確立を目的とし、生息域の異なるゴカイ類の底質浄化能力を比較検討した。その結果、ゴカイ類は種により異なる有機汚濁物質浄化能力、および有害化学物質分解能力を有することが明らかとなった。このことから、ゴカイ類を用いたバイオレメディエーション法を実施するには、各種汚染地域の底質に適した種を選定・利用することが非常に重要であると考えられた。

研究成果の概要 (英文): We compared the remediation ability of polychaetes of living in the different sediments to establish the bioremediation technique using polychaetes. The study showed that polychaetes have the species-specific ability to decompose the hazardous chemicals and organic pollutants in sediment. These results suggested that it is necessary to select optimal species for bioremediation according to the characteristics of contaminated sediment.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野: 複合新領域

科研費の分科・細目: 環境学・環境技術・環境材料

キーワード: 環境浄化・環形動物・プロテアーゼ・セルラーゼ・チトクロム P450・バイオレメディエーション・コケゴカイ

1. 研究開始当初の背景

(1) 国際連合の試算によると 2050 年の世界人口は 91 億人と推定されており、近い将来に未曾有の食糧危機が訪れることが確実視されている。この重大な危機の解決策として、食料を工業的に生産するなど様々な取り組みが行われているが、抜本的な解決策は未だ見出されていない。しかし、唯一の打開策として、持続可能な水産資源の利用が注目を集めている。

(2) 水産資源を効率的・安定的に確保するためには養殖業・栽培漁業が適した手段である。しかしながら、養殖業は、過剰な有機物付加に伴う底質の硫化物汚染や貧酸素化が深刻な問題となっている。一方、栽培漁業で重要な役割を担う河口域では、陸上起源の汚染物質による底質汚染が問題となり、「稚魚のゆりかご」としての機能を失いつつある。これら深刻な底質汚染問題を解決しない限り、水産資源を安定的・効率的に利用するのは難しいと言わざるを得ない。

(3)このような現状のもと、現在、底質汚染問題の解決策として、生物の分解能力を利用した底質浄化法、いわゆるバイオレメディエーション技術が自然に付加をかけない浄化技術として注目されている。研究代表者は、このバイオレメディエーション技術の対象生物として環形動物ゴカイ類を選定し研究を行ってきた。

(4)ゴカイ類は、他の生物に比べ汚染物質に対する耐性が高いだけでなく、物理的に底泥を攪拌し、溶存酸素量を増加させることで底質浄化に貢献しているが知られている。さらに、近年、ゴカイ類から薬物代謝酵素である Cytochrome P450(CYP)がクローニングされ、ゴカイ類自身が化学物質の浄化に関与していることが示唆された。これらのことからゴカイ類は、沿岸海洋生態系の保全において重要な役割を担っているものと考えられ、バイオレメディエーション技術に応用する生物種として非常に適していると考えられる。

2. 研究の目的

ゴカイ類は、沿岸海洋生態系の保全において重要な役割を担っているものと考えられているが、ゴカイ類における環境修復機構には依然未解明な点が多い。そこで本研究課題では、各種汚染底質に生息するゴカイ類の代謝機能を解明するため、ゴカイの生物学的代謝能の解明および環境調査の双方から研究を進め、ゴカイ類の各種酵素活性と環境因子との相関関係を統合的に解析し、その環境に適したゴカイを用いた効率の良いバイオレメディエーション法の確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)ゴカイ類の有する汚染物質代謝機構の検討

ゴカイ類の有機物代謝系については、プロテアーゼ及びセルラーゼを対象とし、異物代謝系については第1相薬物代謝酵素である CYP を対象とした。まず、それぞれの酵素活性を測定後、ゴカイから各酵素遺伝子のクローニングを試みた。得られた分子種を小麦胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて酵素活性機能及び特性を明らかにすると共に、酵素遺伝子の発現量を測定するリアルタイム PCR 法を確立し、ゴカイ酵素活性をバイオマーカーとした新たな環境影響評価法を検討した。

(2)環境調査

ゴカイの生物量調査およびゴカイ生息底泥中の汚染度合いの指標として、酸揮発性硫化物量や多環芳香族炭化水素などの環境汚染物質の

測定を行った。

(3)汚染底質浄化試験

ゴカイ類を用いた海洋底質環境浄化(バイオレメディエーション)技術の確立に向け、より実践的な研究結果を得るため、生息域の異なるゴカイ類を用いた実環境中の汚染底質浄化試験を行い種々の汚染指標の変化を調べた。広島県廿日市港にて採取した底質を用い、イトゴカイ *Capitella* sp. I、イソゴカイ *Perinereis nuntia*、コケゴカイ *Ceratonereis erythraeensis* の飼育試験を行った。飼育温度は 20°C、試験期間は 50 日間で、1 日に生物重量当たり 5%の餌料を与えた。試験終了後、供試生物のバイオマス、底質中の酸化還元電位、酸揮発性硫化物量、および海洋底質汚染物質として知られる多環芳香族炭化水素類濃度を既報に従い測定した。

「試験対象種」(図1)

・イトゴカイ *Capitella* sp. I

養殖場底泥に生息する小型の多毛類でライフサイクルが約 2 ヶ月と短く、大量培養が可能な種である。また汚泥指標種であり、すでに養殖場の有機汚泥の浄化が試みられ、底泥を物理的に攪拌し溶存酸素量を上昇させるなどの有効性が確認されている。

・イソゴカイ *Perinereis nuntia*

河口域の砂礫中に生息する種であり、体長は 10cm 前後で愛媛県愛南町御荘湾に流入する僧都川河口域に生息するゴカイ類の中で優占種である。

・コケゴカイ *Ceratonereis erythraeensis*

潮間帯に生息する体長は 5cm 程度の小型のゴカイで、愛媛県松山市重信川河口の嫌気性汚泥層中で優占種として生息する。

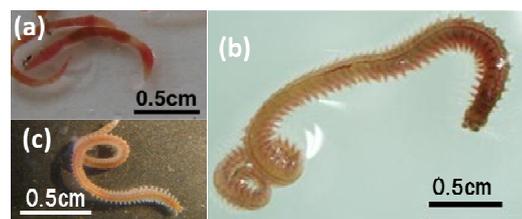


図1 試験対象種

(a)イトゴカイ *Capitella* sp. I (b)イソゴカイ *Perinereis nuntia*
(c)コケゴカイ *Ceratonereis erythraeensis*

4. 研究成果

(1)汚染物質代謝機構の検討結果

生息域の異なるゴカイ類の有機物代謝系及び異物代謝系の種間における代謝能力を比較検討した。

有機物質代謝酵素活性測定の結果、タンパク質が多く蓄積する養殖場下に生息するイトゴカイは、タンパク質を分解するプロテアーゼ活性が高く、また陸上起源の植物系有機物が蓄積する河口域に生息するイソゴカイは、セルロースを分解するセルラーゼ活性が高値を示した(図2)。

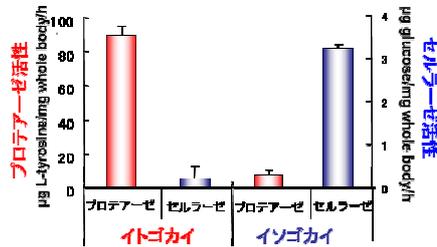


図2 ゴカイ類の酵素活性

また、化学物質の代謝に寄与する異物代謝酵素であるチトクロム P450(CYP)活性を測定した結果、ゴカイ種間において活性に差が認められた。

各酵素遺伝子のクローニングの結果、イトゴカイからプロテアーゼ、イソゴカイからはセルラーゼと高い相同性を持つ遺伝子を得た。イトゴカイのプロテアーゼ遺伝子は腸管及び体表で、イソゴカイのセルラーゼ遺伝子は腸管で強い発現が観察された。さらに、無細胞タンパク質合成系を用い合成したイソゴカイのセルラーゼは酵素活性を保持した。CYP 遺伝子については、イトゴカイ、イソゴカイ、およびコケゴカイから相同性の高い遺伝子の部分配列を得た。

(2) 環境調査結果

環境調査の結果、汚染の進行した底質において、ゴカイ類が底生生物のなかで最も高いバイオマスを占め、多数の種類が確認された。

(3) 汚染底質浄化試験結果

汚染底質浄化試験の結果、50 日間の試験後にイソゴカイの成長が最も高く、5.5 倍に増加しました。また、コケゴカイは、底質の攪拌作用が大きく、底質中の酸化還元電位を試験開始前の -183.4mV から +137.5mV まで上昇させ、底質を還元状態から酸化状態へと改変させた。また、ゴカイ類を添加した全ての試験区において底質中の代表的な汚染指標である酸揮発性硫化物量が減衰し、特にイトゴカイ区では 1.46 mg/g-dry から 0.48 mg/g-dry となった(図3)。

底質中に含まれる有害化学物質削減能力を調べるため、底質汚染物質として知られる多環芳香族炭化水素類の底質中濃度を比較した。その結果、コケゴカイが生物重量当たり最も高い削減能力を示した。コケゴカイに高い有害化学物質削減能力が認められたことから、有害化学物質の代謝に関与していると考えられる CYP のクローニングを行い、コケゴカイの CYP 遺伝子発

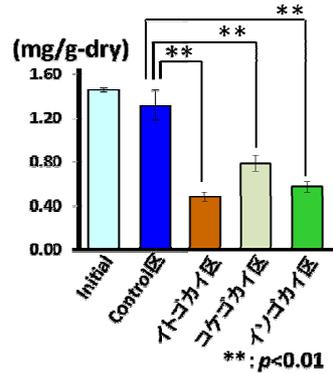


図3 各試験区の底質に含まれる酸揮発性硫化物量(mg/g-dry)

現量を測定するリアルタイム PCR 法を確立した。この測定系は、ゴカイ酵素活性をバイオマーカーとした新たな環境影響評価法に繋がることと期待される。

(4) まとめ

以上の結果から、ゴカイ類は実環境中汚染底質を浄化することが可能であり、さらに、種により異なる有機汚濁物質浄化能力、および有害化学物質分解能力を有することが明らかになった。このことから、ゴカイ類を用いたバイオレメディエーション法を実施するには、各種汚染地域の底質に適した種を選定・利用することが非常に重要であると考えられた。

各種汚染地域の底質に適したゴカイ種を選定・利用する効率の良いバイオレメディエーション技術を開発することは、漁場環境の保全の達成と安心・安全な水産物の生産に向けた大きな一歩となる。

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 2 件)

- ① Ito, K., Nozaki, M., Ohta, T., Miura, C., Tozawa, Y., Miura, T., 「Differences of two polychaete species reflected in enzyme activities.」, 『Marine Biology』, 査読有, 158 巻, 6 号, pp1211-1221, 2011
- ② Ito, K., Nozaki, M., Kunihiro, T., Miura, C., and Miura T. 「Study of sediment cleanup using polychaete」, 『Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry—Marine Environmental Modeling & Analysis』, Eds., K. Omori, X. Guo, N. Yoshie, N. Fujii, I. C. Handoh, A. Isobe and S. Tanabe., © by TERRAPUB, Tokyo, 査読有, pp. 133-139, 2011.

[学会発表](計 7 件)

- ① 伊藤克敏・伊藤真奈・隠塚俊満・太田耕平・

()

研究者番号:

- 三浦猛・羽野健志・持田和彦・藤井一則、
「4種の環形動物を用いた汚染底質浄化試験」『平成23年度日本水産学会春季大会』、
東京、2012年3月
- ② 伊藤克敏・伊藤真奈・隠塚俊満・持田和彦・
藤井一則「海産環形動物の有する汚染底
質浄化機能の検討」『2011年日本ベントス
学会・日本プランクトン学会合同大会』、高
知、2011年9月
- ③ 伊藤克敏・伊藤真奈・隠塚俊満・持田和彦・
藤井一則、環形動物を用いた海洋底質浄
化に向けた取り組み『平成23年度瀬戸
内海研究フォーラム in 大分』、大分、2011
年8月
- ④ Ito, K., Onduka, T., Ohta, K., Ito, M.,
Mochida, K., Ojima, D., Miura, T., and Fujii,
K. 「The Metabolic Function of Annelid for
Bioremediation of 1-Nitronaphthalene」、
『15th International Symposium on Toxicity
Assessment』 Hong Kong (Jul. 2011) 査
読有り、口頭発表
- ⑤ 伊藤克敏・伊藤真奈・持田和彦・隠塚俊満・
太田耕平・三浦 猛・藤井一則、「多毛類の
海洋底質汚染物質浄化に係わる物質代謝
機構の解明」、『第58回日本生態学会札幌
大会』、札幌、2011年3月
- ⑥ Ito, K., Nozaki, M., Kunihiro, T., Miura, C.,
and Miura T. 「Study of sediment cleanup
using polychaete」、『International
Symposium on Modeling and Analysis of
Marine Environmental Problems (MAMEP
Sympo. 2010)』P-12、Matsuyama, Japan、
(Sep. 2010)
- ⑦ 伊藤克敏・野崎真奈・太田 史・戸澤 謙・
三浦智恵美・三浦 猛「ゴカイ類が有する
有機物分解能の分子生物学的解析」、『平
成22年度日本水産学会秋季大会』、
No.243、京都、2010年9月

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 克敏 (ITO KATSUTOSHI)

独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸内
海区水産研究所環境保全研究センター・任期
付研究員

研究者番号:80450782

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者