

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25850145

研究課題名(和文) 海洋生物の炭酸カルシウム形成とポリアミンの関わり

研究課題名(英文) Exploring the participation of biogenic polyamines in calcification of marine 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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：海水にポリアミンを添加し48時間静置すると、アラゴナイト結晶の炭酸カルシウムが生じる。このポリアミンによる石灰化を様々な物質の存在下で調べたところ、50 μ Mリン酸塩を添加した場合に石灰化が完全に阻害されることを見出した。そこで、コクビミドリイシ稚ポリプの骨格形成に及ぼす影響を調べたところ、このリン酸塩濃度で稚ポリプ底面の骨格形成が完全に阻害された。さらに、ポリアミンの生合成阻害物質であるDFMO 20 μ Mを稚ポリプの培養液に添加したところ、底面の骨格形成が明らかに阻害された。これらの結果は、ポリアミンが石サンゴの石灰化に寄与していることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Aragonite crystals formed when 10 mM polyamines (PAs) were added to seawater and the mixture was allowed to stand for 48 h at room temperature. We examined the effect of various reagents on this calcification oriented by 10 mM PAs. When 50 μ M phosphate were added to the seawater containing PAs, the calcification was completely inhibited by phosphate probably due to its ability to bind to aragonite crystals. Then, we investigated the effect of phosphate on skeleton formation of primary polyps from hard coral. As a result, the formation of the bottom skeleton in primary polyps were completely inhibited at a phosphate concentration equal to that inhibited the CaCO₃ formation in the presence of 10 mM PAs. Furthermore, we found that when 20 μ M DFMO, an inhibitor of PAs biosynthesis, was added to the culture medium of primary polyps, the formation of the bottom skeleton were apparently inhibited. These results suggest that PAs play an important role in the CaCO₃ formation in the hard coral.

研究分野：水産化学

キーワード：二酸化炭素 ポリアミン 炭酸カルシウム

1. 研究開始当初の背景

原始地球の二酸化炭素は 30 気圧下で 97% に上ると見積もられており、現在の 1 気圧下で 0.04%まで大きく減少してきたことになる。地球上の全炭素の 4 割は石灰岩や海底堆積物などに存在する炭酸塩であり、この炭酸塩堆積物の殆どは海洋生物が長い時間をかけて作り上げてきたものである。つまり、太古大気に膨大に存在した二酸化炭素の多くが海洋生物によって炭酸塩として固定されてきたのである。しかし、海洋生物の骨格形成の分子機構は明らかになっていない部分が多く、海洋生物の炭酸カルシウム形成が大気中に二酸化炭素を放出しているとの主張も存在する。地球上の炭素分布から明らかのように、地球上の炭素循環における海洋生物の炭酸カルシウム形成の寄与が大きい。すなわち、海洋生物の分子機構を解明することが地球の炭素循環を理解するのに不可欠である。

2. 研究の目的

我々は海洋細菌の培地中にみられる炭酸カルシウム顆粒の形成機構の研究より、すべての生物に含まれているポリアミンという生体物質(図1)が空気中の二酸化炭素を溶液中に取り込み石灰化を促進するという新しい知見を得た。そこで本研究は、「ポリアミンは海洋生物のバイオミネラリゼーションすなわち炭酸カルシウム形成に関与する」との新しい仮説を立てるとともに、これを実証するため、(1) ポリアミンを用いた石灰化反応と海洋生物の石灰化の比較、(2) ポリアミン生合成阻害の合成および(3) ポリアミン生合成阻害が海洋生物の骨格形成に与える影響評価の 3 項目を主な柱として研究を行った。

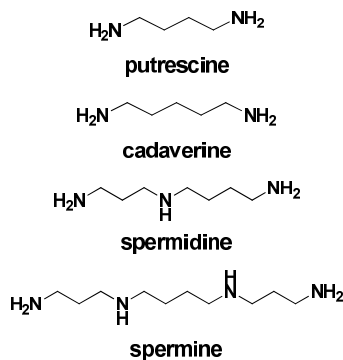


図1. Biogenic polyamines

3. 研究の方法

(1) ポリアミンを用いた石灰化反応と海洋生物の石灰化の比較

海水と同等のカルシウムイオンを含んだ水溶液にポリアミンを添加し静置すると、ポリアミンが空気中に二酸化炭素を溶液中に溶かし込み炭酸カルシウムが沈殿する。この反応液に様々な物質を添加し、

石灰化に及ぼす影響を調べた。また、サンゴ稚ポリプや円石藻の培養液にも同じ物質を添加し、石灰化に及ぼす影響を調べた。

(2) ポリアミン生合成阻害の合成

生体内ではポリアミンは生合成と分解を頻繁に行い、その濃度を調整している。まず、オルニチンがオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の働きによりプトレシンとなり、ここからさらにスペルミジン、スペルミンが生合成される。そのため、ODC 阻害剤によってポリアミンの生合成を抑制することが可能である。もっとも研究されている ODC 阻害剤はジフルオロメチルオルニチン DFMO である。DFMO はオルニチンのアナログ分子で ODC に対して競合阻害を起こす。試薬は非常に高価なため化学合成を試みた。

(3) ポリアミン生合成阻害が海洋生物の骨格形成に与える影響評価

(2) で化学合成した DFMO をサンゴ稚ポリプや円石藻の飼育液に添加し、石灰化に及ぼす影響を調べた。

4. 研究成果

(1) ポリアミンを用いた石灰化反応と海洋生物の石灰化の比較

カルシウムイオンを含むポリアミン溶液に各種化合物を添加し、石灰化に及ぼす影響を調べた。その結果、ペプトン、クエン酸塩またはリン酸塩などカルシウムをキレートする物質を添加した場合、石灰化を強く阻害した。特にリン酸塩は非常に低濃度においても石灰化反応を阻害した(図2)。

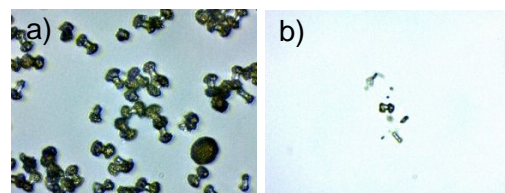


図2. リン酸塩による石灰化阻害

a) 海水にポリアミンを添加して生じた炭酸カルシウム結晶。 b) a) の反応溶液にリン酸塩を添加した場合の炭酸カルシウム結晶。

また、結晶形状に及ぼす影響も大きいことがわかった。これらの阻害物質をサンゴ稚ポリプおよび円石藻の飼育液に添加したところ、ポリアミンを用いた反応と同様に石灰化が阻害された。特にリン酸塩は、ポリアミンによる石灰化反応もサンゴ稚ポリプによる石灰化も同じ濃度で阻害することが明らかになった(図2)。

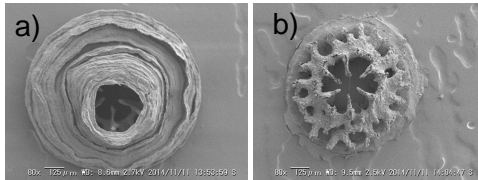


図 3.リン酸塩を添加して飼育したサンゴ稚ポリプの SEM 写真. a)海水のみで飼育した場合. b)リン酸塩を添加した場合.

(2) ポリアミン生合成阻害の合成

オルニチンを原料にマジードラ (2006) の方法を参考に DFMO を合成した. オルニチンを原料とし, メチル化後にアミノ基をピスイミンへ誘導し保護した. さらに, 塩基で水素を引き抜いた後, ジフルオロメチル基を導入した. 得られた DFMO は NMR および高分解能 MS によって構造を確認した.

(3) ポリアミン生合成阻害が海洋生物の骨格形成に与える影響評価

(2)で化学合成した DFMO をサンゴ稚ポリプおよび円石藻の飼育液に添加し石灰化に及ぼす影響を検証したが, DFMO を添加したサンゴ稚ポリプは高濃度では成育に影響を及ぼしたが, ある濃度では石灰化のみを有意に阻害することがわかった. また, 円石藻の場合, DFMO は増殖に影響を及ぼしたが石灰化への影響は判断できなかった.

本研究課題により, ポリアミンによる石灰化反応と海洋生物の石灰化が阻害される物質はほとんどの場合一致していた. 特にリン酸塩は同じ濃度でサンゴ稚ポリプの石灰化を阻害した. また, ポリアミンの生合成阻害物質である DFMO はサンゴ稚ポリプの石灰化をある濃度では有意に阻害した. これらの結果は, 海洋生物の石灰化にポリアミンが関与していることを示唆する.

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 1 件)

1. Ko Yasumoto, Mina Yasumoto-Hirose, Jun Yasumoto, Ryo Murata, Shun-ichi Sato, Megumi Baba, Kanami Mori-Yasumoto, Mitsuru Jimbo, Takenori Kusumi, Shugo Watabe: Biogenic polyamines capture carbon dioxide and accelerate bacterial calcium carbonate formation, *Mar. Biotechnol.*, 16(4), p465-474, (2014). DOI: 10.1007/s10126-014-9566-z, 査読あり. 平成 26 年度マリンバイオテクノロジー学会論文賞受賞

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 飯島真理子, 安元 剛, 神保 充, 廣瀬美奈, 安元 純, 渡部終五, サンゴ稚ポリプの骨格形成にリン酸塩が与える影響, 平成 27 年度日本水産学会春季大会, 2015 年 3 月 27-31 日, 東京海洋大学(東京都港区), 口頭.
2. 安元 剛, 末弘宗滉, 飯島真理子, 神保 充, 廣瀬美奈, 安元 純, 楠見武徳, 渡部終五, Polyamine 生合成および輸送体阻害剤の海洋生物の骨格形成への影響, 平成 27 年度日本水産学会春季大会, 2015 年 3 月 27-31 日, 東京海洋大学(東京都港区), 口頭.
3. 飯島真理子, 安元 剛, 宇野興一, 神保 充, 安元 純, 廣瀬美奈, 渡部終五, ココピミドリイシ稚ポリプの石灰化機構に関する研究, 第 9 回 バイオミネラリゼーションワークショップ, 2014 年 12 月 12-13 日, 東大柏キャンパス(千葉県柏市), ポスター.
4. 安元 剛, 飯島真理子, 宇野興一, 神保 充, 安元 純, 廣瀬美奈, 渡部終五, サンゴ稚ポリプの石灰化機構に関する研究, 2014 年 11 月 25 日, 真珠層形成研究会, 東京大学本郷キャンパス(東京都文京区), 口頭.
5. 飯島真理子, 安元 剛, 神保 充, 廣瀬美奈, 安元 純, 渡部終五, ココピミドリイシ稚ポリプの石灰化にリン酸塩が与える影響, 第 27 回北里大学バイオサイエンスフォーラム, 2014 年 8 月 21-22 日, 北里大学相模原キャンパス(神奈川県相模原市), ポスター.
6. 末弘宗滉, 安元 剛, 佐藤駿一, 白沢 駿, 杉村尚倫, 松山 泰, 神保 充, 渡部終五, 坂田 剛, 植物の光合成にポリアミンが与える影響, 第 27 回北里大学バイオサイエンスフォーラム, 2014 年 8 月 21-22 日, 北里大学相模原キャンパス(神奈川県相模原市), ポスター.
7. 安元 剛, 飯島真理子, 神保 充, 安元 純, 廣瀬美奈, 渡部終五, 栄養塩がサンゴ幼生の石灰化に与える影響, 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2014 年 5 月 31 日-6 月 1 日, 三重大学生物資源学部校舎(三重県津市), 口頭.
8. 安元 剛, 飯島真理子, 神保 充, 安元 純, 廣瀬美奈, 渡部終五, 栄養塩がサンゴ幼生の石灰化に与える影響, 第 28 回海洋生物活性談話会, 2014 年 5 月 10-11 日, 九州大学生物資源環境科学府付属水産試験所およびサンピア福岡(福岡県福岡市), 口頭.

〔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 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし