

平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書

| | | | | | | | |
|--|----|--|--------|------------------------|--------|---------------------------|--------|
| ふりがな | | たのうえ えいいちろう | | | | | |
| 研究代表者 氏名 | | 田上 英一郎 | | 所属研究機関・ 部局・職 | | | |
| | | | | 名古屋大学・大学院環境学研究科・ 教授 | | | |
| 研究 課題 名 | 和文 | 海洋有機物プールのダイナミクスと地球表層物質循環の長期変動との関わり | | | | | |
| | 英文 | Long-term interaction between dynamics of marine organic pools and earth's surface bioelemental cycles | | | | | |
| 研究経費 | | 平成14年度 | 平成15年度 | 平成16年度 | 平成17年度 | 平成18年度 | 総合計 |
| 16年度以降は内約額 金額単位：千円 | | 37,500 | 22,500 | 11,300 | 10,900 | 7,500 | 89,700 |
| 研究組織（研究代表者及び研究分担者） | | | | | | | |
| 氏名 | | 所属研究機関・部局・職 | | 現在の専門 | | 役割分担（研究実施計画に対する分担事項） | |
| 田上 英一郎 | | 名古屋大学・大学院環境学 研究科・教授 | | 生物地球化学 | | 研究全体の推進および結果のとりまとめ | |
| 北川 浩之 | | 名古屋大学・大学院環境学 研究科・助教授 | | 同位体地球化学 | | 有機態・無機態炭素の放射性炭素同位体 分析 | |
| 西田 民人 | | 名古屋大学・大学院環境学 研究科・助手 | | 有機地球化学 | | 有機物の組成および同位体の分析とモデ ル実験 | |
| 当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。） | | | | | | | |
| <p>長い時間スケール（～10³年）を視野において、地球表層の炭素循環と海洋有機物プールとの関わりを 解明することを本研究の最終ゴールとする。地球環境の変化に伴う海洋有機物プールの変化と、そのフ ィードバックについて理解することは、地球システムの動的な姿を理解することである。海洋有機物プ ールの99%以上を占める非生物態有機物の動態、即ち、その起源や生成、変質、分解プロセスが引き起 こされる時間に関する情報を得る必要がある。換言すれば、生物によって合成される多種多様な有機化 合物の大部分が分解されて無機化する一連の過程で、どのような生物によって有機物が生成されるか、 どの有機化合物によって有機物プールが構成されるか、そしてそれはなぜか、等の疑問に答える必要が ある。</p> <p>具体的には以下の課題を実施し、上記の課題に取り組んでいる。</p> | | | | | | | |
| <ul style="list-style-type: none"> ・ 海洋有機物プール中の有機物組成と構成成分の分子レベルでの同定。 ・ 有機物全量、有機物の分子組成、さらに各分子レベルの放射性炭素同位体比（¹⁴C）および 炭素同位体比（¹³C）をもとに有機物の起源やダイナミクスに関する情報の取得。 ・ モデル実験による有機物プールの生成・維持プロセスの解明。 ・ 観測及び実験結果を踏まえた海洋有機物プール生成・維持機構プロセスモデルの開発。 | | | | | | | |

これまでの研究経過（研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。）

・過去2年間は、有機物プールの有機物組成と構成成分の分子レベルでの同定及びそのダイナミクスを理解するために必要な海盆レベルの観測及び試料採集を実施した。

2001年11月から2002年3月に至る東京大学海洋研究所白鳳丸による中部南太平洋・南大洋航海、2002年2・3月国立極地研究所チャーター船による南極海航海、2003年9-10月東京大学海洋研究所白鳳丸による西部北太平洋航海、さらに毎年行われる三重大学勢水丸による東経137°線に沿った伊勢湾から黒潮沖にいたる実習航海に参加し採取した、海水試料の有機物量・有機物組成の決定等を実施した。

北部北太平洋・ベーリング海、赤道太平洋、南極海に至る広範な海域から得られた試料について、アミノ酸・タンパク質、脂質について分子レベルで研究から、以下のことが明らかになった。

溶存タンパク質分子を二次元電気泳動法により分離・検出し、以下の結果を得た。

- 1) 試料が採集された海域や深度が異なっても、泳動上の挙動から、溶存有機物中には412のタンパク質分子が存在した。2) これらのタンパク質の多くが分子内に糖鎖を有し、かつペプチド鎖のN末端アミノ酸配列が同一であった。即ち、分子内に異なった糖鎖を有する同一タンパク質分子種であるグリコフォームであった。海洋生物の多様性を考慮すると、海洋では無数といっただよいタンパク質分子が生産されている。それにもかかわらず溶存有機物中に残存するタンパク質は限られたものである。
- 3) 主要タンパク質の一つが、病原性細菌の緑膿菌酵素である低分子アルカリフォスファターゼと同定された。

表層懸濁有機物中のアミノ酸の化学形に関する解析結果を行い、以下の結果を得た。

- 1) 懸濁態アミノ酸は、生物体と同じタンパク質、酸性糖と共有結合するペプチドそして5～8個及び1～4個のアミノ酸で構成されるペプチドに大別できる。
- 2) 酸性糖と共有結合するペプチドと1～4個のアミノ酸で構成されるペプチドが量的に大部分を占める。
- 3) 量的には少ないものの、表層懸濁有機物から計23個のタンパク質分子が検出でき、そのうちの1つが植物プランクトン由来のヒートショックタンパク質（HSP70）と同定された。

表層懸濁態及び溶存態脂質の化学形に関する解析結果から、以下の結果を得た。

- 1) 脂質の大部分を占める脂肪酸組成は、表層懸濁態脂肪酸が生体の組成と類似していると対照的に、溶存脂質の脂肪酸の大部分は、表層から深層に至るまで炭素鎖が16及び18の飽和脂肪酸であるパルミチン酸及びステアリン酸が主成分であり、生体脂質とは大きく異なる。
- 2) とところが、全脂質の¹H-NMR像は、懸濁態及び溶存態を問わず、脂質の官能基が生体脂質とほぼ同じであることを示した。
- 3) 溶存脂質は、生体脂質の中でステアリン酸に富む微量成分が修飾（変質）を受けないまま選択的に残存・蓄積している。また、その残存・蓄積は、パルミチン酸、ステアリン酸に富む脂質が有する物性によって決定している。

沿岸域から外洋域までをカバーした伊勢湾内から黒潮沖にいたる東経137°線に沿った観測線は、空間スケールは小さいものの、海洋環境の相違と有機物プールの化学組成との関連を検討する場として優れている。この観測線から得られた試料について、以下のことが明らかになった。

溶存アミノ酸化学形に関する解析の結果から、以下の結果を得た。

- 1) アミノ酸濃度と組成は、海域や深度によって系統的な変化がある。
- 2) アミノ酸含有溶存有機物の大部分は分子量5,000以下である。
- 3) 溶存アミノ酸は単に低分子ということではなく、蛍光特性からタンパク質分解産物である。
- 4) 分子量5,000以上の画分は、表層水中においてはタンパク質やポリペプチドとして存在し、深層水中においては低分子のペプチドとして存在している。限外濾過時に生ずる剪断力では破壊されない分子間力で相互作用し、あたかも高分子であるかのように挙動している。

これまでの研究成果は、

海洋有機物プールを構成する成分は、その分解耐性により短い時間スケールの分解から逃れられていくのではなく、その物性により分解をされず海洋有機物プールの普遍的成分として存在しうる。

とする海洋有機物プール維持メカニズムに対する仮説を支持するものである。

特記事項 (これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。)

海洋における有機物サイクルは、海洋有光層に生息する植物プランクトンに始まる。従って、溶存有機物に関する従来のパラダイムでは、植物プランクトン体を構成する有機物 (Biopolymer) が非生物学的及び生物学的に修飾された後、難分解性の Geopolymer に姿を変えて存在する溶存有機物プールと考えられてきた。

しかし、1995年以降、本研究の代表者により海洋細菌外膜タンパク質 (ポーリントンパク質) が発見され、つづいて欧米諸国の研究者により海洋細菌外膜由来の D 体アミノ酸やペプチドグリカン成分の検出されるなどの報告が相次いだ。海洋細菌はこれまで考えられていたように「溶存有機物の消費者」としてのみならず、「溶存有機物プール構成成分の生産者」としても重要である。現在では「海洋細菌外膜が分解耐性を有し溶存有機物プールの重要な構成成分である」とする仮説が提唱されている。

本研究によって新たに、溶存タンパク質の主要成分が *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (緑濃菌の一種) の酵素タンパク質である低分子アルカリフォスファターゼであることがわかった。本研究の出発点となったポーリントンパク質も *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 に由来する。溶存タンパク質の起源から見る限り、特定の海洋細菌由来の特定のタンパク質が溶存有機物プール構成成分となっていることを示している。これは「海洋細菌外膜が分解耐性を有し溶存有機物プールの重要な構成成分である」とする現在の仮説を覆すものである。欧米諸国の研究者によるアプローチでは、細菌の普遍的な構成有機成分が検出されるに留まり、有機物プールの動的な姿やその存在理由を理解するに至る情報は与え得ない。高分子有機物をその状態のまま同定した本研究のアプローチこそが、新たな有効な情報を得ることを可能にした。

タンパク質のみならず、アミノ酸の化学形についても、新しい知見が得られた。有機物プールを構成するアミノ酸の大部分が、懸濁態及び溶存態を問わず低分子ペプチドとして存在することがわかった。限外濾過等の物理的な分離操作から判断して、これらのペプチドは、数個のアミノ酸から成る低分子であるけれども、分子間相互作用して、ペプチド同士もしくは他の有機成分とともに、海水中では高分子であるかのように振る舞っていることも明らかになった。

このような分子間の相互作用による分子結合について、本研究室が世界に先駆けて行った脂質の脂肪酸組成や核磁気共鳴法による官能基分析から具体的な証拠が得られている。即ち、生体脂質としては微量成分であるステアリン酸を含む脂質種が化学的修飾を受けないまま、海洋溶存脂質の主要成分となっている。そして、このような脂質種は、その物性により相互作用し、その結果として複合体を形成することにより、溶存有機物プール中の主要脂質成分として存在し得ることを仮説をたてた。

本研究の成果として、溶存有機物プールの維持メカニズムとしては、以下の仮説を提唱するに至った。

- 1) タンパク質の研究から
生物体から溶存態への移行過程が重要である。
- 2) アミノ酸や脂質の研究から
溶存態への移行後の有機物—有機物相互作用が重要である。

そして、
両者を満足する有機化合物のみが海洋有機物プールの普遍的な構成成分として存在し得る。

この仮説は、単に海水中に残存しているという現象面から難分解性有機物として取り扱われている溶存有機物構成成分に新たな見方を与えるものであり、ひいては海洋有機物プールの動態に新たなパラダイムを与えるものである。

欧米諸国を中心とした多くの研究者によって実施されている溶存有機物プールのダイナミクスについての研究は、濃度変化や炭素プール間のフラックスの変化に関わる観測に基づき、いわば微分的な変化に注目した研究である。このようなアプローチは、微生物ループを中心とした生態系の維持メカニズムの解明や短い時間スケールでの炭素循環について考えるうえで重要である。しかし、短い時間スケールでの炭素循環では、海洋有機物プールのダイナミクスよりも、粒子による鉛直輸送や大気—海洋間のガス交換の方がより重要であろう。

海洋有機物プール動態解明の重要性は、地球環境の変化に伴い、その巨大な現存量がどのように変化し、その結果がどのように地球環境にフィードバックするかについて理解することである。いわば海洋有機物プールの積分的な変化を理解することにある。その研究ゴールに向けて、海洋有機物プールに「いつでも、そこにある」有機成分の起源やそれらが存在できるメカニズムについて検討する必要がある。本研究は、このような疑問に真正面から応えようとするもので、本研究で導かれた仮説は、海洋有機物プールと生態系の密な関係を我々に提示し、生態系が変われば海洋有機物プール自体が変化する可能性を示している。

研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(発表予定のものを記入することも可能。)
の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会
等における発表状況について記入してください。)

著書

- 北川浩之(2003)加速器質量分析法。ケミカルエンジニアリング 48/10, 14-18。
北川浩之(2004)炭素 14 年代キャリブレーション「環境考古学ハンドブック」(安田喜憲編) 43-58。朝倉書店
田上英一郎(2004)有機物の生産と堆積。地球化学講座第 4 巻、有機地球化学、共著、培風館、印刷中。
田上英一郎(2004)溶存有機物。地球化学講座第 6 巻、大気・水圏の地球化学、共著、培風館、編集集中。

原著論文

- 1) Obayashi, Y. and E. Tanoue (2002): Growth and mortality rates of phytoplankton in the northwestern North Pacific estimated by the dilution method and HPLC pigment analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 280, 33-52.
- 2) Volkman, J. and E. Tanoue (2002): Chemical and biological studies of particulate organic matter in the ocean. *J. Oceanogr.*, 58, 265-279.
- 3) Hamanaka, J., E. Tanoue, T. Hama and N. Handa (2002) Production and export of particulate fatty acids, carbohydrates and combined amino acids in the euphotic zone. *Mar. Chem.*, 77, 55-69.
- 4) Wu F and E. Tanoue (2002): Tryptophan in sediments of lakes from Southwestern China Plateau. *Chem. Geol.*, 184, 139-149.
- 5) Tani, H., J. Nishioka, K. Kuma, H. Takada, Y. Yamashita, E. Tanoue and T. Midorikawa (2003): Iron (III) hydroxide solubility and humic-type fluorescent organic matter in the deep water column of the Okhotsk Sea and the northwestern North Pacific Ocean. *Deep-Sea Res. part 1*, 50, 1063-1078.
- 6) Yamashita, Y. and E. Tanoue (2003): Distribution and alternation of amino acid in bulk DOM along the transect from bay to oceanic waters. *Mar. Chem.*, 82, 145-160.
- 7) Yamada, N. and E. Tanoue (2003): Detection and partial characterization of dissolved glycoproteins in oceanic waters. *Limnol. Oceanogr.*, 48, 1037-1048.
- 8) Yamashita, Y. and E. Tanoue (2003): Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids. *Mar. Chem.*, 82, 255-271.
- 9) Ogawa, H. and E. Tanoue (2003): Dissolved organic matter in oceanic waters. *J. Oceanogr.*, 59, 129-147.
- 10) Wu, F.C., E. Tanoue and C.Q. Liu (2003) Fluorescence and amino acid characteristics of molecular size fractions of DOM in the waters of Lake Biwa. *Biogeochem.*, 65, 245-257.
- 11) Takata, H., K. Kuma, S. Iwade, Y. Yamajoh, A. Yamaguchi, S. Takagi, K. Sasaoka, Y. Yamashita, E. Tanoue, T. Midorikawa, K. Kimura and J. Nishioka (2004): Spatial variability of iron in the surface water of the northwestern North Pacific Ocean. *Mar. Chem.*, accepted.
- 12) Mitsuguchi, T., Kitagawa, H., E. Matsumoto, E., Y. Shibata, Y., Yoneda, M., Kobayashi, T., Uchida, T., N. Ahagon, N. (2004) High-resolution ¹⁴C analyses of annually-banded coral skeletons from Ishigaki Island, Japan: Implications for oceanography. *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res.* (in press)
- 13) Morimoto, M., Kitagawa, H., Shibata, Y. and Kayanne, H. (2004) Seasonal radiocarbon variation of surface seawater recorded in a coral from Kikai Island, subtropical Northwestern Pacific. *Radiocarbon* (in press).
- 14) Kitagawa, H., Mukai, H., Nojiri, Y., Shibata, Y., Kobayashi, T. and Nojiri, T. (2004) Seasonal and secular variations of atmospheric ¹⁴CO₂ over the Western Pacific since 1994. *Radiocarbon* (in press).
- 15) Dang, X. Phong, Mitsuguchi, T., Kitagawa, H., Shibata, Y. and Kobayashi, T. (2004) Marine reservoir age in the south of Vietnam estimated from an annually-banded coral skeleton. *Radiocarbon* (in press)
- 16) Miyahara, H., Masuda, K., Furuzawa, H., Muraki, Y., Nakamura, T., Kitagawa, H. and Arslanov, K. (2004) Variation of the radiocarbon content of tree ring during the Spoerer Minimum. *Radiocarbon* (in press)
- 17) Yamashita, Y. and E. Tanoue (2004): Chemical characteristics of amino acid-containing dissolved organic matter in seawater. *Org. Geochem.*, 35, 679-692.
- 18) Saijo, S. and E. Tanoue (2004): Characterization of particulate proteins in Pacific surface waters. *Limnol. Oceanogr.*, in press.
- 19) Yamashita, Y. and E. Tanoue (2004): In situ production of chromophoric dissolved organic matter in coastal environments. *Geophys. Res. Lett.*, submitted
- 20) Yamada, N. and E. Tanoue (2004): Pathway and survival of biopolymers from source bacteria to marine dissolved organic pool. *Science*, submitted.

その他の学術論文

- 1) 田上英一郎・小川浩之 (2002) : 溶存有機物。海の研究, 11, 48-51。
- 2) 田上英一郎(2002): 溶存有機物の化学像・起源そして謎。沿岸海洋研究 40, 37-42.
- 3) 田上英一郎 (2004): 海洋における有機物の特性とその動態に関する研究。2003 年度日本海洋学会賞受賞記念論文、海の研究、13, 7-23。
- 4) 田上英一郎 (2004): 海水中の有機物、(特集)水—水をめぐる新たな視点。日本分析化学会「ぶんせき」印刷中

国際会議発表

- Hamanaka, J. and E. Tanoue (2002) Primary production and export flux in the northern North Pacific: results from the combination of ¹³C uptake and sediment trap experiments. *Phytoplankton productivity, An appreciation of 50 years of the study of production in oceans and lakes.* Bangor, Mar., 2002.
- Nishida, T. and E. Tanoue (2003) Chemical characterization of marine dissolved and particulate lipids. *Goldschmidt Conference, Sep., 2003, Kurashiki, Japan.*
- Yamada, N. and E. Tanoue (2003) The survival of dissolved glycoproteins in oceanic waters. *Goldschmidt Conference, Sep., 2003, Kurashiki, Japan.*
- Yamashita, Y. and E. Tanoue (2003) Is amino acid-containing dissolved organic matter molecularly different between surface and deep seawaters? *Goldschmidt Conference, Sep., 2003, Kurashiki, Japan.*
- Tanoue, E. and S. Saijo (2003) Occurrence of a heat shock protein in oceanic surface particulate organic matter. *Goldschmidt Conference, Sep., 2003, Kurashiki, Japan.*
- Yin Z., F. Wu and E. Tanoue (2003) Tryptophan and other amino acids in the sediments of four Chinese lakes. *Goldschmidt Conference, Sep., 2003, Kurashiki, Japan.*
- Yamada, N. and E. Tanoue (2004) The inventory and partial characterization of dissolved proteins in oceanic waters. *ALSO/TOS Ocean Research Conference, Feb., 2004, Hawaii, Honolulu.*

学術研究発表等

- Tanoue, E. (2002) Recent advancements on dissolved organic matter (DOM) study - Changing paradigm-, *Oceanogr. Soc. Japan, Autumn Meeting, Sapporo*
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2002) Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM. *Oceanogr. Soc. Japan, Autumn Meeting, Sapporo*
- 大林由美子・田上英一郎(2002)緑藻は生き生きしているときほど食べられてしまう? 捕食による現存量コントロールの程度の藻類グループ間での相違、日本海洋学会秋季大会、札幌
- 田上英一郎 (2002)「有機物研究から、海洋生態系ひいては海洋生命系への質問」。海洋生命系ワークショップ、3月、東大海洋研
- 田上英一郎(2003)海洋における有機物の特性とその動態に関する研究。日本海洋学会賞受賞講演 日本海洋学会春季大会、東京、3月
- 山田奈海葉・田上英一郎(2003)溶存態タンパク質への2次元電気泳動法の適用。日本海洋学会春季大会、東京、3月
- 山下洋平・田上英一郎(2003)溶存態アミノ酸の存在状態について。日本海洋学会春季大会、東京、3月
- 高田兵衛・久万健志・岩出将英・山口篤・高木省悟・坂岡圭一郎・山條喜宣・山下洋平・田上英一郎・緑川貴(2003)北西北太平洋表層における3価鉄の溶解度と溶存鉄濃度を左右する要因。日本海洋学会春季大会、東京、3月
- 山田奈海葉・田上英一郎(2003)溶存態タンパク質への2次元電気泳動法の適用 2。日本海洋学会秋季大会、長崎、9月
- 山田奈海葉・田上英一郎(2004)細菌由来タンパク質の溶存態有機物への移行及び残存・蓄積メカニズム。日本海洋学会春季大会、つくば、3月
- 山下洋平・田上英一郎(2004)沿岸域から外洋域における溶存態アミノ酸の空間分布。日本海洋学会春季大会、つくば、3月