

平成17年度採択分

平成19年 3月31日現在

研究課題名(和文)有機・無機相互作用解析によるバイオミネラリゼーションの制御機構の解明

研究課題名(英文)Regulation mechanism of biomineralization based on interaction between organic matrices and inorganic crystals

研究代表者

長沢 寛道(NAGASAWA HIROMICHI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



推薦の観点: 創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要: 生物が作る無機鉱物(バイオミネラル)は骨や貝殻など生物にとって極めて重要な硬組織であるが、その形成機構は不明な点が多い。バイオミネラルには微量の有機物が含まれ、これが形成に鍵を握っている。この有機物の構造と機能および無機鉱物との相互作用を解析することにより、その形成機構を解明する。

研究分野/科研費の分科・細目/キーワード: 農学/農芸化学・生物生産化学・生物有機化学/生物活性物質

1. 研究開始当初の背景

(1) 下等な生物から高等な生物まで無機鉱物を形成する作用(バイオミネラリゼーション)がある。しかし、そのメカニズムは生命科学だけでも鉱物結晶学だけでも解明することは困難である。

(2) 生物が作る無機鉱物(バイオミネラル)には微量の有機物(有機基質)が含まれており、これがバイオミネラリゼーションを制御していると考えられてきたが、不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

(1) 有機基質と無機結晶の間の相互作用を解析することにより、バイオミネラル形成の制御機構を解明することを目指す。

(2) 本研究分野は生命科学と鉱物結晶学の境界領域である。これまで、このような組み合わせの研究領域はなかった。本研究は両分野の参画により、新しい研究領域を創成することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 天然のバイオミネラルの形成状態を電子顕微鏡で観察し、鉱物結晶学的特徴を明らかにする。

(2) さまざまなバイオミネラルから機能性有機基質を抽出・精製・構造解析する。また、有機基質をコードするcDNAをクローニングし、時期・部位特異的発現を明らかにする。

(3) *in vitro* で基質タンパク質存在下に炭酸カルシウム過飽和溶液から結晶化を行い、形成された結晶の結晶学的特徴を明らかにする。

(4) 有機基質の構造機能相関を石灰化と他の有機基質との相互作用の観点から明らかにする。

(5) キンギョの鱗の再生系を用いて *in vivo* での石灰化制御機構を明らかにする。

4. これまでの成果

(1) 円石藻のココリスについて、電子後方散乱回折により、ココリスを構成する炭酸カルシウム結晶の方位をはじめ明らかにし、制御されていることがわかった(図1)。

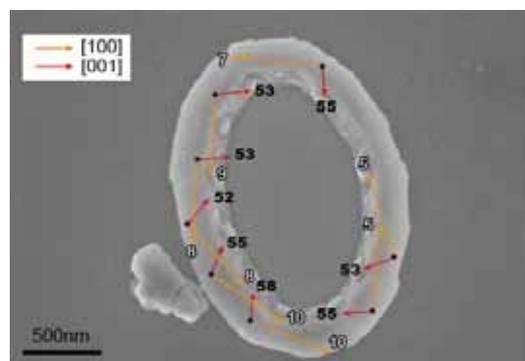


図1. 円石藻のココリスの結晶方位

(2) アメリカザリガニの外骨格から新規可溶性ペプチド2種、アコヤガイの貝殻の真珠

〔 4 . これまでの成果 (続き) 〕

層から新規タンパク質 2 種、キンギョの鱗から新規タンパク質 2 種、ニジマスの耳石からタンパク質 8 種、円石藻のココリスから酸性多糖 1 種をそれぞれ単離し、構造解析した。そのうちのいくつかについては、遺伝子をクローニングし、部位特異的発現解析を行った。(3) 炭酸カルシウムの結晶多形 (カルサイト、アラゴナイト、バテライト、アモルファス) は生物・組織によって厳密に決まっている。これはバイオミネラルに含まれる有機基質が誘導することが推定されてきたが、確かな証拠はなかった。われわれはニジマスの耳石 (アラゴナイト) から 2 種類のタンパク質を単離することに成功し、その複合体が耳石と同様のアラゴナイト結晶を誘導することを明らかにした。一方、アコヤガイの貝殻の真珠層 (アラゴナイト) から 2 種類のタンパク質を精製し、その複合体がアラゴナイトを誘導することを見い出した。現在は、詰めの実験をしているところである。

(4) われわれはバイオミネラルに含まれる有機基質が機能から 3 つに分類できることを提唱している (図 2)。このうち 2) に属する有機基質は多機能性があり、1) の不溶性有機基質に結合するとともに結晶核形成、結晶多形や結晶方位を制御する能力がある。アメリカザリガニの害骨格由来基質ペプチド CAP-1 は分子中央部にキチンと結合する配列を、C 末端部に酸性アミノ酸残基の塊を有し、結晶核形成や炭酸カルシウムとの相互作用に重要であることが示唆された。

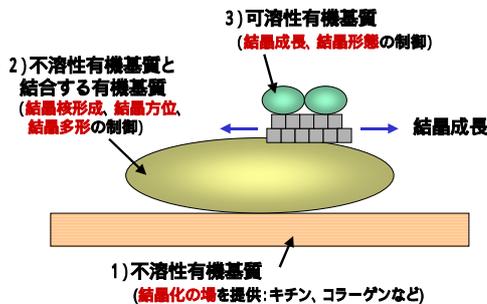


図 2 . 有機基質の機能モデル

(5) リンとカルシウムが不足した環境条件下で鱗を再生させると、石灰化が極度に抑制された再生鱗が形成された。この鱗を生理的条件下で 4 時間培養すると、急速に石灰化が起こり、透過型電子顕微鏡観察により、それが骨質層の高電子密度物質中で起こることを明らかにした。この高電子密度物質として 30 kDa タンパク質が候補として挙げられ、現在このタンパク質の構造を解析中である。

5 . 今後の計画

(1) 天然のバイオミネラルおよび人工作製

した無機結晶の鉱物学的特徴づけを行う。

(2) 結晶多形制御活性を有する有機基質の探索し、同定する。

(3) さまざまな有機基質の構造・機能を解析することにより図 2 のモデルを検証する。

(4) 有機基質の機能解析の一環として構造機能相関を明らかにする。

(5) バイオミネラリゼーションと有機基質の分子進化の関係を明らかにする。

6 . これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

(1) Ozaki N, Sakuda S and **Nagasawa H**: A novel highly acidic polysaccharide with inhibitory activity on calcification from the calcified scale "coccolith" of a coccolithophorid alga, *Pleurochrysis carterae*. Biochem. Biophys. Res. Commun., in press.

(2) Suzuki M, Sakuda S and **Nagasawa H**: Identification of chitin in the prismatic layer of the shell and a chitin synthase gene from the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata*. Biosci. Biotechnol. Biochem., in press

(3) Inoue H, Ohira T and **Nagasawa H**. Significance of the C-terminal acidic region of CAP-1, a cuticle calcification-associated peptide from the crayfish, for calcification. Peptides, 28, 566-573 (2007).

(4) Suzuki H, **Nagasawa H** and Kogure T: Synthesis and structure of hollow calcite particles. Crystal Growth and Design, 6, 2004-2006 (2006).

(5) Saruwatari K, Ozaki N, **Nagasawa H** and Toshihiro K: Crystallographic alignment of coccolith (*Pleurochrysis carterae*) revealed by electron back-scattered diffraction (EBSD). Amer. Mineral., 91, 1937-1940 (2006).

(6) Tohse H, Murayama E, Ohira T, Takagi Y and **Nagasawa H**: Two isoforms of carbonic anhydrase in rainbow trout: differential expression and function in otolith biomineralization. Comp. Biochem. Physiol. A, 145, 257-264 (2006).

(7) Sato K, Kumagai Y, Kogure T, Watari K, Tanaka J: Polymorph and orientation control of calcium carbonate crystals achieved by organic matrices, J. Ceram. Soc. Jpn., 114, 754-759 (2006).

(8) Murayama E, Herbomel P, Kawakami A, Takeda H and **Nagasawa H**: Otolith matrix proteins, OMP-1 and Otolin-1, are necessary for normal otoliths growth and their correct anchoring onto the sensory maculae. Mech. Develop., 122, 791-803 (2005).

他 7 編 (受賞なし)

ホームページ等 :

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/gakujutsubiom/index.html>