

北里大学海洋生命科学部だより

No.36

平成22年 3 月

平成21年度 岩手県三陸海域研究論文 特別賞受賞

.....加藤 千晶

水産無脊椎動物の生殖のしくみ.....天野 勝文

三陸の海と世界一のワカメ.....難波 信由

アメフラシ卵に含まれるタンパク質の

胚発生における働き.....神保 充

海洋生物のD-アミノ酸は何をしている？...横山 雄彦

渦鞭毛藻のオスとメス.....小檜山篤志



新しく完成した実験棟と実験室（右下）

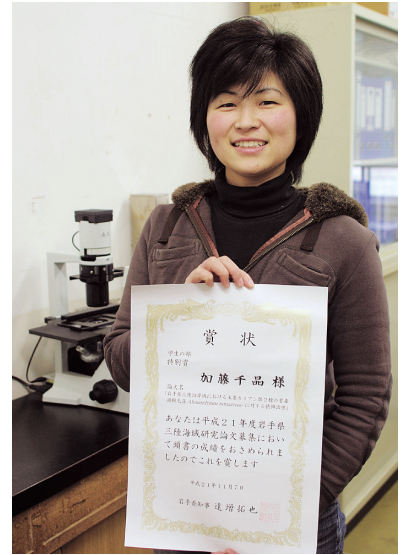
平成21年度 岩手県三陸海域研究論文 特別賞受賞

大学院 修士課程2年 加藤 千晶

「特別賞を受賞して」

岩手県沿岸域ではカキやホタテといった二枚貝の養殖が盛んに行われている一方、有毒渦鞭毛藻による貝毒現象が頻繁に発生し問題となっています。私の研究は、貝毒現象を引き起こす有毒渦鞭毛藻と二枚貝以外の捕食者である動物プランクトン、特にその大部分を占めるカイアシ類との関係に着目し、被食-捕食関係から沿岸生態系における貝毒物質の動態を解明することを目的としています。今回の研究で明らかになったことは有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* とカイアシ類との関係の基礎的な知見ではありますが、将来的には、貝毒物質の高次捕食者への移行を阻止するような生物の発見、そして貝毒物質の動態の解明ひいては貝毒対策の新たな技術につながる可能性を秘めています。最後になりましたが、今回特別賞という栄えある賞を頂くことができたのは、ひとえに研究のやり方もわからない私に一からご指導して下さった先生方のおかげです。この場をお借りして心から感謝申し上げます。また、この研究に携わることができ大変誇りに思います。今後は、研究生活で培った一つ一つの課題に地道に取り組む姿勢を持ち続け、社会に貢献していきたいと思っております。

以下、受賞論文になります。



岩手県三陸沿岸域における主要カイアシ類2種の 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* に対する摂餌活性

北里大学大学院水産学研究科 加藤 千晶

ショートアブストラクト【要旨】

Alexandrium tamarense がカイアシ類 (*Acartia steueri* および *Eurytemora pacifica*) の摂餌活性に与える影響について調べた。 *Ac. steueri* の *Al. tamarense* に対する摂餌速度は細胞密度の増加に伴い上昇したが、 *E. pacifica* の摂餌速度は渦鞭毛藻の細胞密度が300cells/mlを越えると大幅に低下した。さらに、 *Al. tamarense* の細胞抽出物を *E. pacifica* が好んで摂食したハプト藻 *Chrysochromulina* sp. に添加し与えたところ、添加前と比べて摂餌速度が激減した。以上より、 *Al. tamarense* の体内に含まれる物質がカイアシ類の摂餌活性を低下させることが示唆された。

アブストラクト【本文】

はじめに

有毒渦鞭毛藻とその摂食者との関係

有毒渦鞭毛藻類は沿岸や内湾域においてしばしば大

増殖を起こし、これらを濾過食者である二枚貝が摂食して毒性分を体内に蓄積することにより貝毒現象が引き起こされ、食品衛生上または水産業振興において大きな問題となっている。こうした貝毒現象への対策として、有毒赤潮の発生メカニズムや二枚貝における毒性分の蓄積、代謝および排泄等に関する研究が積極的に行われている。しかし、沿岸環境における有毒藻類と、それらを主に摂食していると思われる濾過食性動物プランクトン、特にカイアシ類との相互関係については、未だ不明な点が多い。

今日までに、世界中の沿岸域において種々の有毒藻類とカイアシ類を対象とした研究が行われている。まず、カイアシ類は有毒藻を活発に摂食し、赤潮の規模を縮小するとされる一方、有毒藻が産生する物質がカイアシ類の摂餌活性を低下させ、そのために有毒赤潮がより長く持続するとも考えられている。また、有毒藻類はカイアシ類の成長や再生産を阻害するという報

告もある。このように、有毒藻類とカイアシ類との関係は、それぞれの種および生産する毒によって大きく異なることが予想される。

本県沿岸における事例

本県沿岸海域ではカキやホタテといった二枚貝の養殖が盛んに行われている一方、有毒渦鞭毛藻*Alexandrium tamarense*による貝毒現象が毎年発生し、大きな問題となっている。これまでに貝毒発生のモニタリングや、貝毒に関する生理・生化学的研究が多く行われてきたが、貝毒現象を沿岸生態系内で起こる現象の一部として捉え、広範囲な食物網を通じた貝毒物質の動態解明に主眼を置いた研究は行われていない。

本研究の目的

そこで本研究では、本海域で多く出現する濾過食性カイアシ類2種の*Alexandrium tamarense*に対する摂餌実験を行い、沿岸生態系における有毒渦鞭毛藻と摂食者との相互関係の基礎的な知見を得ることを目的とした。

材料と方法

カイアシ類および渦鞭毛藻

本研究において用いたカイアシ類2種 (*Acartia steuerei* および *Eurytemora pacifica*) は、岩手県沿岸南部の大船渡湾および越喜来湾において2007~2008年の5~11月にノルパックネット (口径45cm) を用いて水深約20mより採集した。採集後直ちに両種の成体雌を抽出し、実験開始まで20°Cで24時間順化させた。また、渦鞭毛藻*Alexandrium tamarense*は、大船渡湾より分離され、SW II 培地を用いて20°C, 15L:9Dの明暗周期下で培養した株 (OFAT0105-8) を使用した。本株は麻痺性貝毒であるゴニオトキシンおよびサキシトキシンを産生する有毒株であることが確認されている。

実験1：カイアシ類の*Alexandrium tamarense*に対する摂餌活性

*Alexandrium tamarense*をWhatman GF/Fフィルターでろ過した海水を用いて100~1000cells/mlの細胞密度に調節し、この試水をガラスビン (容積約150ml) 10本に分注した。このうち5本にはカイアシ類の成体雌5個体を入れて実験区とし、残りの5本は試水のみ

入った対照区とした。これらのビンを20°C, 15L:9Dの明暗周期下で24時間インキュベートした。24時間後に両区より試水を採取して中性ホルマリン (最終濃度1%) で固定し、生物顕微鏡を用いて試水中の*Al. tamarense*の細胞数を計数した。この計数結果をFrost (1972) の式に代入し、カイアシ類の渦鞭毛藻に対する摂餌速度および濾水速度を算出した。また、求められた摂餌速度は藻類細胞数 (cells/個体/h) で表わされるが、これを炭素ベースの値 ($\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$) に変換した。

実験2：*Alexandrium tamarense*細胞抽出物がカイアシ類の摂餌活性に及ぼす影響

無毒の微細藻類4種 (ハプト藻*Isochrysis galbana*, *Chrysochromulina* sp., *Pavlova* sp. および渦鞭毛藻*Heterocapsa triquetra*) を、Whatman GF/Fフィルターでろ過した海水を用いて各藻類の細胞サイズに応じて1000~50000cells/mlの細胞密度に調節し、この懸濁液をガラスビン (容積約150ml) 10本に分注した。以下、実験1と同じ操作を行い、カイアシ類の各藻類4種に対する摂餌速度を求めた。なお、本実験においてカイアシ類は*Eurytemora pacifica*のみを用いた。

次に、実験1で用いた同株の*Alexandrium tamarense* (細胞密度5680cells/ml) を超音波破碎した後、Whatman GF/Fフィルターでろ過し、20mlの細胞抽出液を得た。続いて、上記実験においてカイアシ類が最も高い摂餌速度を示した藻類を1つ選んで、この藻類を上記実験と同様に濾過海水で希釈して試水を作成し、この中に*Al. tamarense*細胞抽出液を7.042ml/l (*Al. tamarense*細胞数が1000cells/mlになるように算出) 注入した。以下の操作は前出の実験と同様に行い、Frost (1972) の式に従い、カイアシ類の微細藻類に対する濾水速度および摂餌速度を算出した。

結果

実験1

*Acartia steuerei*の*Alexandrium tamarense*に対する摂餌速度は、細胞密度100~300cells/mlにおいて0.08~0.10 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$ まで緩やかに増加した後に800cells/mlまで急激に増加し (0.38 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$)、1000cells/mlではほぼ同様の値を示した (図下)。濾水速度は、

細胞密度100cells/mlで最大値を示し (0.25ml/個体/h), 以降は0.12~0.17 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$ の範囲ではほぼ変化せず一定であった (図下). 一方, *Eurytemora pacifica*では, 細胞密度100~200cells/mlにおける摂餌速度は0.08~0.09 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$, さらに300cells/mlにおいては0.39 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$ と, *Ac. steueri*で示された値とほぼ同様に变化した. しかし細胞密度400cells/mlでは, 摂餌速度は0.09 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$ まで急激に減少し, 1000cells/mlでは摂餌速度および濾水速度ともに負の値を示した (-0.46 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$ および-0.17ml/個体/h, 図1上).

以上の結果から, 細胞密度が1000cells/mlまでの範囲において, *Ac. steueri*の*Al. tamarense*に対する摂餌速度は細胞密度の増加に伴い上昇し, 濾水速度はほぼ一定であった. 一方*E. pacifica*では, 細胞密度が低い場合には摂餌速度および濾水速度は細胞密度の増加とともに上昇したが, 300cells/mlを境に細胞密度の増加とともに低下することが明らかとなった.

実験2

*Eurytemora pacifica*の無毒微細藻類4種 (ハプト藻

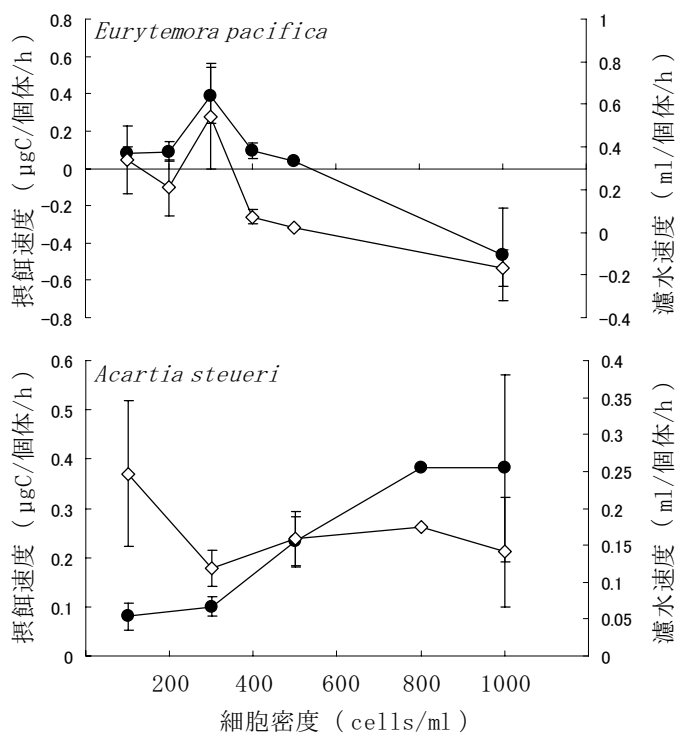


図1; *Eurytemora pacifica* (上) および *Acartia steueri* (下) の, *Alexandrium tamarense* の各細胞密度に対する摂餌速度および濾水速度。●は摂餌速度 ($\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$), ◇は濾水速度 (ml/個体/h) を表す。

3種, 渦鞭毛藻1種) に対する摂餌速度を比較した結果, 本種はハプト藻 *Chrysochromulina* sp. に対して最も高い摂餌活性を示した (2.51 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$, 図2). そこで, *Chrysochromulina* sp. の懸濁液 (細胞密度50000 cells/ml) を作製し, この中に *Alexandrium tamarense* の細胞抽出液を加えて摂餌実験を実施した. その結果, *E. pacifica* の *Chrysochromulina* sp. に対する摂餌速度および濾水速度は, *Al. tamarense* の細胞抽出液を加えることにより大幅に減少し, いずれも負の値を示した. (-0.13 $\mu\text{gC}/\text{個体}/\text{h}$ および -0.02ml/個体/h, 図3).

考察

「実験1」において, *Alexandrium tamarense* に対するカイアシ類の摂餌速度は, *Acartia steueri* の場合は細胞密度の増加に伴い上昇したが, *Eurytemora pacifica* では, 細胞密度300cells/mlで最大となった以降は, 細胞密度の増加とともに減少した. 同時に濾水速度も大きく減少したことから, *Al. tamarense* の存在は *E. pacifica* の摂餌行動そのものを低下させると考えられた. 本実験で用いたカイアシ類は両種ともに濾過食性であり, 体長は成体で約1mmとほぼ同じであることから,

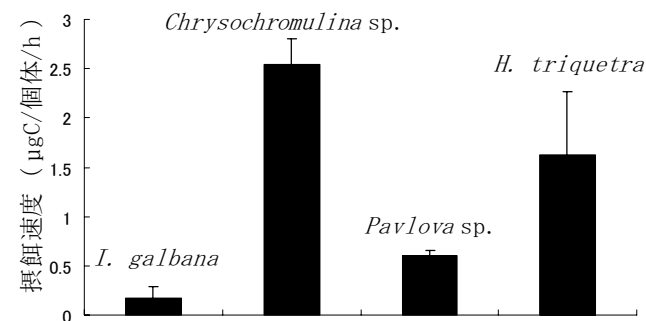


図2; *Eurytemora pacifica* の無毒藻類4種 (ハプト藻類 *Isochrysis galbana*, *Chrysochromulina* sp. および *Pavlova* sp., 渦鞭毛藻 *Heterocapsa triquetra*) に対する摂餌速度。

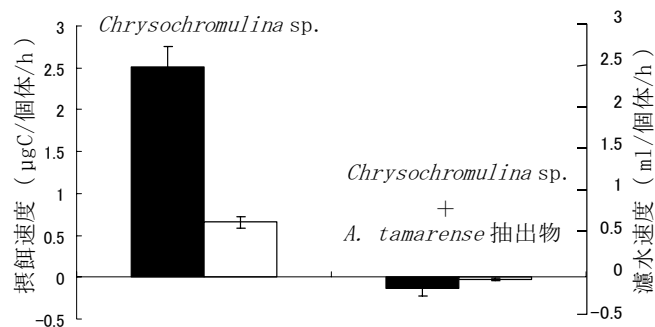


図3; *Eurytemora pacifica* の摂餌活性に対する *Alexandrium tamarense* 細胞抽出物の影響。■は摂餌速度, □は濾水速度を表す。

*Al. tamarense*に対する両種間の摂餌活性の違いは、藻類細胞の大きさや形態などの物理的条件以外の要因によるものであると推察された。

上記の推察を踏まえて行った「実験2」においては、*E. pacifica*が本来好んで摂食するはずの藻類に*Al. tamarense*の細胞抽出物を添加したところ、摂餌活性は大幅に減少した。以上のことから、*Al. tamarense*による

カイアシ類の摂餌活性低下は、*Al. tamarense*が細胞内において産生する化学物質により引き起こされると考えられた。さらに、この化学物質に対するカイアシ類の反応は、カイアシ類の種間で大きく異なることが示唆された。

文献：Frost, B. W. (1972) *Limnol. Oceanogr.* 17:805-815

水産学講座

水産無脊椎動物の生殖のしくみ



教授 天野 勝 文

脊椎動物の生殖内分泌機構

動物は自然環境に適応しながら効率的に生殖を行って種を保存する。その生殖は、主としてホルモンによってコントロールされている。ホルモンとは、微量で生体に特異的な作用を及ぼす化学物質のことである。ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）と呼ばれるホルモンは、哺乳類の生殖を最も上位で制御するホルモンとして1970年代初めに発見された。GnRHは10個のアミノ酸がつながって構成されている、いわゆる神経ペプチドホルモンである。GnRHは脳の視床下部と呼ばれる部分に存在する細胞体で合成される。そして、血管（下垂体門脈系）を通過して脳下垂体に達する。そこで、ゴナドトロピン（GTH）の放出を促進し、結果的に生殖腺の発達を進める。なお、GnRHを最初に発見したシャーリーとギルマンは、1977年にノーベル医学生理学賞を受賞している。

その後、比較生物学的観点から脊椎動物のGnRHについて国内外で精力的に研究が進められた。その結果、哺乳類のGnRHとアミノ酸の配列が少し異なる分子が、ニワトリ、カエル、サケ、メダカ、タイ、サメ、ヤツメウナギなどの脳から次々と発見された。このことは脊椎動物において、GnRHが動物種を超えて広く存在し、生殖活動をコントロールすることを示している。ちなみに、GnRHの名前は、最初に発見された動物名で呼ばれている。たとえば、「サケ型GnRH」は最初にサケの脳から発見されたのであるが、その後の研究

によって、ほとんどすべての魚類に存在することがわかった。また、最初に発見された「哺乳類型GnRH」は魚類ではウナギにも存在する。ニワトリからは2種類のGnRHが発見されたが、後から見つかった「ニワトリⅡ型GnRH」は、ほとんどすべての脊椎動物に存在することがわかった。したがって、「キンギョの脳内におけるサケ型GnRHとニワトリⅡ型GnRHの分布は異なり、…」とか「ウナギの脳内における哺乳類型GnRHとニワトリⅡ型GnRHの性成熟に伴う変化については、…」などという表現になってしまい、若干ややこしい感がある。

魚類の性成熟とGnRH

筆者は、大学院の時に、魚類（とくにサケ科魚類）の性成熟のしくみについて研究を行った。その結果、サクラマス脳内には2種類のGnRH分子種が存在すること、夏至のころから日長処理を施すと性成熟を制御することができるが、脳内のGnRHの遺伝子発現も性成熟とリンクして変動することなどがわかった。さらに、一部のGnRHは、神経線維を視床下部—脳下垂体系ではなく、脳全体の広範囲に投射することも明らかにした。このように、従来から知られていた「脳下垂体においてGTH放出を促進するという本来のGnRH」の他に、「脳内に広く分布して他のニューロンの機能を調節する神経修飾物質として機能するGnRH」も存在することがわかった。その結果、GnRHという神経

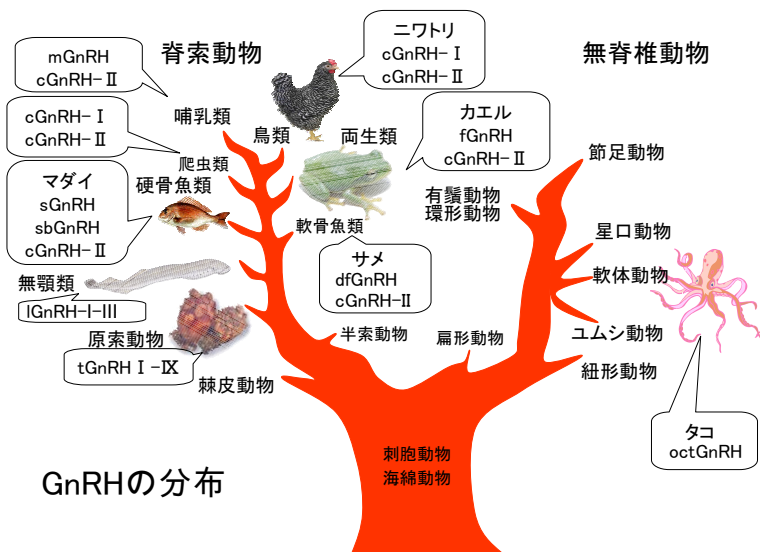


図1. 各種動物門におけるGnRHの分布。

ペプチドホルモンの多機能性が、比較内分泌学の分野で注目を集めるようになった。

無脊椎動物におけるGnRHの分布と機能

無脊椎動物は、種としては地球上の生物の約96%を占める大きな生物群である。最近、無脊椎動物においても原索動物門のホヤと軟体動物門のタコから、脊椎動物のGnRHと構造のよく似ている新規のGnRH分子が同定された。ちなみに、「タコ型GnRH」はアミノ酸12個から構成されている。さらに無脊椎動物の数動物門においてGnRHの存在が免疫組織染色（抗原抗体反応を利用して組織切片上でホルモンの存在部位を同定する方法）などで推定されている。ホヤの一種のカタユレイボヤに「ホヤ型GnRH」を投与すると、放精と放卵を誘起することができる。また、ヒザラガイ

の一種では、GnRHがフェロモンとして機能するらしいことも報告されている。これらのことから、「GnRHの起源は非常に古く、海綿動物など原始的な多細胞生物が進化したときに獲得され、その後の進化の過程で機能分化してきた」と考えられる。このように、GnRH分子進化の仮説を検証するためには、無脊椎動物のGnRHについて系統的かつ網羅的に検証する必要がある。

無脊椎動物には、アワビ、ナマコ、クルマエビなど、多くの重要水産種が存在する。水産増養殖では安定的に種苗を生産することが重要である。したがって、無脊椎動物、とくに重要水産種におけるGnRHの存在と

生理機能を明らかにして生殖のしくみを理解することは、生物学的にはもちろんのこと、種苗の安定生産の基盤ともなる点で水産学的にもきわめて重要である。GnRHの存在が推定されている動物門でも、実際に調べられた動物種はきわめて少ない（図1参照）。したがって、無脊椎動物においてもGnRHが広く分布することを示すためには、GnRHの存在が報告されていない動物門（星口動物門、ユムシ動物門、紐形動物門など）と合わせて、系統的かつ網羅的に検証する必要がある。そこで筆者らは、ここ数年、三陸沿岸で採集した水産無脊椎動物を用いて、GnRHの探索を行っている。詳細については省略するが、多くの水産無脊椎動物種において、GnRH様ペプチドを免疫組織染色で検出している。今後数年間は、このテーマについて研究を進める予定である。

水産学講座

三陸の海と世界一のワカメ



准教授 難波 信由

本州の北東部に位置する岩手県は南北に長い紡錘状をしていて、太平洋に面する三陸の海の海岸線は全長約700kmに達します。その北部から中部にかけては海食崖や海岸段丘が発達する隆起海岸ですが、中部から

南部にかけては、宮古湾から広田湾まで約15の湾が連なるリアス式の海岸です。沖合には冷たくて栄養豊富な親潮と、暖かい黒潮、津軽暖流が流れていて、多様な生物を育む三陸の海の源になっています。一方、岩

手県はその約80%が森林で占められ、沿岸海域である三陸の海のバックヤードとして、この海を守っています。

三陸の沖合が世界有数の漁場であることは周知の通りですが、三陸の沿岸も豊かな水産資源を供給する全国でも有数の海域です。沿岸漁業（採る漁業）の生産量は、アワビ類が全国一位、ウニ類とサケ・マス類が全国二位を誇ります。一方、沿岸養殖では、今回紹介するワカメが全国一位、コンブ類とマボヤが全国二位、ホタテガイやカキ類も全国で5本の指に入ります。

現在、ワカメは主に日本、中国、韓国で養殖生産されていますが、岩手県では1940年代に、県南に位置する現在の大船渡市三陸町越喜来湾でその養殖が始まり、1950年代には大船渡市末崎町で養殖技術が確立しました。その後、同じ末崎町でワカメの画期的な加工方法である「湯通し塩蔵ワカメ」（収穫したワカメを直ちに湯通しし、冷水で冷やしてから塩蔵加工した後、中肋（茎）の除去と、選別をおこなう）が開発され、全国規模で販売される食品として定着したとされています。

三陸産ワカメは葉が肉厚で光沢と弾力が有り、味噌汁に入れたらとろけてなくなるようなことはありません。逆に、初めて食べた人はこれがワカメかと思うような食感を持っていて、三陸産ワカメの品質は世界一といわれています。1990年代には大船渡市の企業が、独特の粘りがある食品として「めかぶ」（胞子を形成する特別な葉）を販売し始め、全国で大きな反響を得ています。また最近では、大きくなる前のワカメを収穫して販売する「早採りワカメ」が人気を呼んでおり、生のままぶつ切りにして「しゃぶしゃぶ」にすると、



養殖実験での三陸産ワカメの収穫



液体窒素で凍結保存中の三陸産ワカメ

三陸産ワカメのしっかりとした食感を生かした最高の旬の食材を味わえます。

では、三陸産ワカメがなぜ高品質なのでしょうか。

これに関して現在では、遺伝と生育環境との両方がワカメの品質（形態形質）に影響を与えていると考えられています。ワカメといっても、その形態的特徴からナンブワカメとワカメの2つの品種に分けられます。ナンブワカメは「南部」というくらいですから三陸沿岸を主産地とする北方系品種で、波あたりの強い場所に生育するといわれています。このナンブワカメの形態的特徴が三陸産ワカメの品質の高さ（葉が肉厚であることなど）とよくあっています。さらに最近では、地方個体群によってワカメの遺伝子型が異なっているという報告もあります。私達の研究室でも、大学のすぐ南に位置する越喜来湾の同一海域で、異なる産地のワカメを育てたところ、異なる形態のワカメができました。そして、両方ともその親と類似した形態であることが分りました。これはワカメの品質（形態形質）が親から遺伝することを示しています。そこで、高品質な三陸産ワカメを生きたまま長期間保存し、いつでも養殖生産に使用できる凍結保存技術の実用化をおこないました。この技術は、ワカメ養殖の種苗生産（種の生産）に使われている配偶体（顕微鏡サイズの雄と雌の体）を用い、液体窒素中で -200°C 近くまで冷やして半永久的に保存するものです。人間の卵や精子の保存にも使われていて、100年経っても生きたまま変わらない形で保存できると考えられています。

これまでではワカメの品質（形態形質）と遺伝との関係を紹介してきましたが、ワカメの品質を決めるもう一つの重要な要因が生育環境です。三陸沿岸では、各

湾の中部から湾口部にかけてと、外洋に面した比較的波あたりの強い海域でワカメの養殖がおこなわれています。そこで私達の研究室では、三陸産ワカメの特徴をもった同じ親から得たワカメを、越喜来湾の湾奥（ワカメを養殖していない海域）と湾口付近（ワカメ養殖海域）の2カ所で育ててみました。その結果、湾口付近では親と類似した高品質（葉が肉厚であることなど）なワカメが育ちましたが、湾奥で育てたワカメは葉が薄く、生長も悪くなりました。これはワカメの品質（形態形質）が生育環境に強く影響されることを示しています。さらに、ワカメを育てた湾口付近の流速は湾奥の約2倍に達していました。

これは隆起海岸とリアス式海岸という三陸特有の地形が、高品質なワカメを育てるための流れの速く、波あたりの強い環境を造り出していることを示しています。そして、これまで紹介してきた研究結果は、三陸の海が造り上げている自然環境と、その環境下で育つ三陸原産のワカメ（ナンブワカメ）の二つがそろって初めて、私達はしっかりとした食感をもつ最高のワカメを味わえることを物語っています。

この話の始めに紹介しましたが、私達はワカメ、コンブ類、アワビ類、ウニ類、サケ・マス類など三陸の海から多くの極上の食べ物を得ています。豊かな三陸の海に育てられた後、私達の食卓に並ぶこれら海からの食べ物は、陸地の狭い我が国にとって、安定した食

料供給の面でも非常に重要な役割を果たしています。一方、食品の安全性が重要視されている今日、これらの食べ物が育てられている海の安全性すなわち、食品の製造環境を把握・維持していく必要があります。

私達の研究室では、沿岸漁業（採る漁業）としてアワビ類、ウニ類、サケ・マス類などを生産し、ワカメ、ホタテガイ、マボヤやカキ類など多く種類を養殖している越喜来湾を対象海域として、2008年から環境調査を始めています。水素イオン濃度（pH）、化学的酸素要求量（COD）、溶存酸素量（DO）、大腸菌群数、全窒素など環境汚染を示す項目を測定し、環境省が定めた「生活環境の保全に関する環境基準」を用いて評価した結果、2008年、2009年の両年ともに最もきれいな海のランクに当てはまりました。この結果は、三陸の海が食品の製造環境として最も高いレベルに維持されていることを示しています。私達の研究室では、三陸の豊かできれいな海を維持していくためにも、ワカメやコンブ類を中心とした海藻の研究や環境調査を続けていきたいと考えています。

最後になりますが、今回紹介した研究は、岩手県水産技術センターの皆様や長崎大学の桑野和可准教授、越喜来漁業協同組合の皆様の協力を得ておこなわれたものです。そして、岩手県と大船渡市から研究助成金を頂きました。この場をお借りしてお礼申し上げます。

研究紹介

アメフラシ卵に含まれるタンパク質の 胚発生における働き



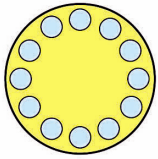
准教授 神 保 充

私たちはアメフラシの卵から、糖に結合するレクチンというタンパク質を見つけました。最近、このレクチンが胚発生に重要な働きをしていることがわかりつつあります。そこで卵におけるレクチンの働きについて解説します。まずは糖はどのようなものか、レクチンとは何かを説明した後に、レクチンがアメフラシの発生にどのように関係しているか説明していきます。

糖はすべての生物(細胞)にある。

生物の三大栄養素は糖と脂質とタンパク質と言われます。タンパク質は筋肉のアクチンや消化酵素のトリプシンなどとして体で使われています。一方、脂質は細胞膜の成分となったり、脂肪として蓄えられています。それでは糖はどうでしょうか。ブドウ糖やデンプンなどエネルギーの生産にも関わりますが、細胞の構造を支えるのにも使われています。たとえば、細菌や

A. 未受精卵



B. 受精卵

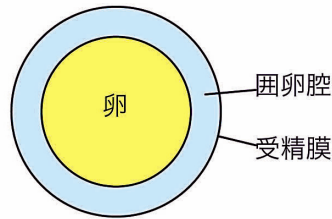


図1 卵におけるレクチンの分布

未受精卵では、卵表面直下の小胞にレクチンが存在する (A)。一方、受精すると、受精膜と卵の間にレクチンが放出される (B)。水色はレクチンを示す。

植物の細胞壁は糖できています。他の生物でも、細胞膜の表面から「糖鎖」が生えています。糖鎖はブドウ糖を含む様々な糖がつながったもので、細胞表面から生えています。糖鎖は糖の種類だけでなくつながり方も複数あるため、たくさんの種類があるのです。

このような多様な糖鎖は、生物ごと、個体ごとに異なっています。例えば、ABOを始めとするさまざまな血液型は、細胞表面の糖鎖の違いに由来しています。輸血や臓器移植の時に血液型が重要なのは、糖鎖の違いにより拒絶反応が起こることがあるからです。また、インフルエンザウイルスは種類によって感染する動物が決まっています。これは、生物により細胞表面の糖鎖が異なっていることが原因です。つまり、生物によっても、糖鎖が異なっているのです。したがって、糖鎖を見分けることにより、相手がどんな生物なのか、敵か味方か区別することもできるはずで

レクチンについて

生物が持つ糖鎖を読み解くのが、今回の主役であるレクチンです。レクチンとは、特定の糖鎖を認識して結合することができるタンパク質の総称です。レクチンは細菌からヒトまで、すべての生物種で見られます。その働きは、異物認識や殻形成・共生・老廃物の除去など多様な機能が見いだされています。例えば、フジツボでは殻の形成を促進するタンパク質としてレクチンが働いています。同様なレクチンは鳥の卵の殻を形成するのにも用いられており、卵殻タンパク質の主成分が同様な構造を持つタンパク質であったりします。似たような構造のレクチンでも、非常に冷たい海の中かで体液が凍るのを防ぐ不凍タンパク質や、膀胱で結

石ができないようにするリソスタチンのように、結晶化を阻害するタンパク質もあります。

一方、レクチンは特定の細胞を見分けるのにも使われています。多様な抗体を産生できない無脊椎動物では、さまざまな病原菌を見分けるためにレクチンを使っています。すなわち、レクチンが感染した微生物に結合し、異生物であることを示す目印となるのです。レクチンによる区別は異生物に対するものだけではなく、生物を構成する細胞をも区別することができます。最近では胚性幹細胞 (ES細胞) を用いた再生医療の研究が盛んに行われていますが、ドリコス豆のレクチンは胚細胞からES細胞を見分けるのに使うことができます。また、昔は白血球を分離するために、血液にピーナッツのレクチンを加えて赤血球を取り除いていました。

一方、レクチンの作用は細胞、微生物を見分けるだけではなく、細胞に様々な影響を引き起こさせることができます。たとえば、マメのレクチンは下痢を引き起こさせます。数年前に「白インゲンダイエット」と称して、加熱が不十分な状態でマメを食べてダイエットをするというのがTV放送されましたが、試した人がひどい下痢に悩まされました。これは、マメに含まれるレクチンが原因でした。レクチンには、分化した白血球を未分化な状態にして増殖させたり、癌細胞を殺す作用も持っています。

レクチンは、卵にも含まれることが広い生物で報告されています。たとえば、ニジマス、カイコ、ウニ、カエルなどの卵から複数のレクチンが見つかっています。未受精卵では、レクチンは卵の表面直下の袋にありますが、受精すると、受精膜が上がるのと同時に、卵と受精膜の間の空間 (囲卵腔) にレクチンが放出されます (図1)。レクチンは卵の外にあることから、細

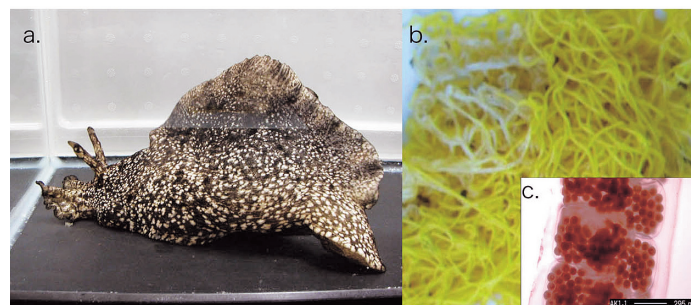


図2 アメフラシとその卵塊

a. 研究に使っているアメフラシ b. 産卵された卵塊
c. 細い管を拡大した写真。球状のものが受精卵。

菌感染からの防御や、多精拒否に関わると推定されています。一方、レクチンによっては受精卵の発生が進むにしたがって量が変化したり、発生段階の胚の特定の部位に結合することが知られています。これは、レクチンが特定の細胞に作用して、胚発生に影響を与えている可能性を示しているかもしれません。

アメフラシのレクチン

アメフラシは、磯で見かける生物の一つで春から夏に見られます(図2 a)。アメフラシは、巻き貝と近縁の後鰓類に属しています。貝殻は退化していますが、発生の初期には立派な殻を持っています。アメフラシは雌雄同体で、体の中に他個体の精子をためた後、産卵直前に体内で受精させてから産卵します。産卵された卵塊は非常にきれいな黄色で麺のように見えることから、ウミソウメンとも呼ばれます(図2 b)。このウミソウメンは一見すると、カエルの卵のようにゼリーのような殻の中に、1ずつの卵が連なっているように見えますが、1つの卵に見える部分には20-50個の受精卵が入っています。

私たちは、この卵塊の中にレクチンがあることを見いだしました。このレクチンは、先ほどのウニなどと同様に、囲卵腔に存在していました。これは受精卵の外にあることから、特定の細胞に結合して細胞の分化を引き起こすのに関わっているかもしれません。

レクチンと胚発生

レクチンと発生の関わりに話を移す前にアメフラシの発生について説明します。図3には、アメフラシ受精卵の発生を示します。始めの数時間は卵割が起こり(図3 b)、その後、胞胚(図3 c)を経て、原腸胚(図3 d)となります。原腸胚の後半に繊毛で遊泳ようになります。その後、様々な器官が形成されてベリジャー幼生(図3 f)となります。アメフラシが巻き貝の仲間であることを示すように明確な殻を形成します。この形でふ化した後、数日から数週間経つと貝殻を脱ぎ捨てて変態し、親と同じような形態になります。

胚の発生段階によるレクチンの量を調べてみると、原腸胚の時期にレクチン量が最大になることがわかりました。原腸胚といえ、外胚葉中胚葉、内胚葉からなる三胚葉までできており、器官形成を行う準備段階

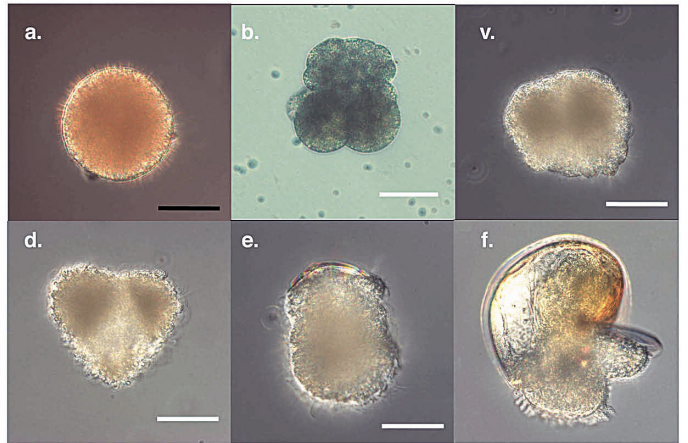


図3. アメフラシの発生
a. 受精卵, b. 卵割期, c. 胞胚期, d. 原腸胚期,
e. トロコフォア幼生, f. ベリジャー幼生

です。この後に、様々な細胞が分化して器官形成が起こってきます。

レクチンは、発生に関わりうるのでしょうか。上で述べたようにレクチンは、細胞に結合することで影響を及ぼします。もし、レクチンが細胞に結合できない状態にさせれば、何らかの変化が起こるかもしれません。アメフラシの卵レクチンはガラクトツロン酸という糖に好んで結合しますので、発生の最中にガラクトツロン酸を加えて、胚の形態を観察しました。その結果、ガラクトツロン酸を加えると、全体の形が崩れ、眼の様に見える平衡胞がなくなり、泳ぐための器官である面盤もうまく形成されませんでした(図4)。この結果は、レクチンがアメフラシ胚の形態形成に何らかの影響

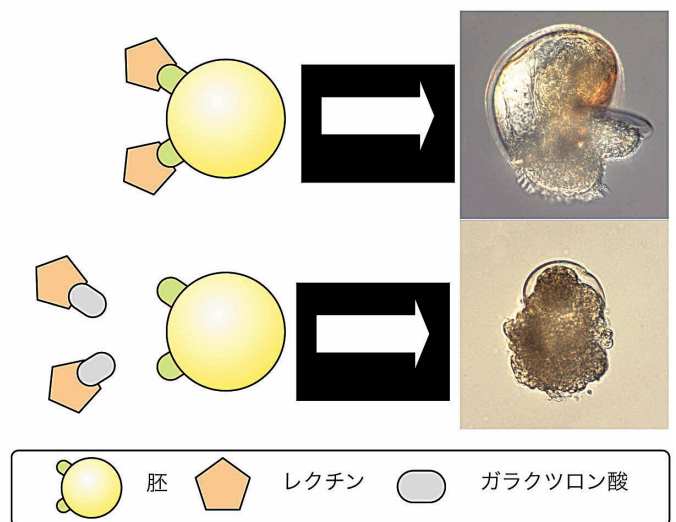


図4 レクチンの結合が発生へ及ぼす影響
レクチンは、胚表面に結合すると、正常に発生する。一方、レクチンが胚に結合できないと、異常な形態となる。

響を持つことを示しています。このように胚を使ってレクチンの機能を明らかにする実験は他の生物では行われていません。アメフラシの胚を使うことで、レク

チンの発生での役割を解き明かすことができるかもしれません。

研究紹介

海洋生物のD-アミノ酸は何をしている？



講師 横山 雄彦

「アミノ酸」という単語は誰もが知っていると思われるが、そのアミノ酸にD型とL型があるのを知っている人はおそらく少数であろう。我々の生体を構成しているアミノ酸はL-アミノ酸であり、通常「アミノ酸」といえばL-アミノ酸のことを指している。D-アミノ酸はL-アミノ酸の光学異性体（図1）であり、それは原核生物のうち真正細菌というグループの細胞壁成分であるペプチドグリカンの構成成分として存在していることが古くから知られており、ペプチダーゼのようなものに対して抵抗力を持つためにD-アミノ酸を含んでいるとされている。

一方、真核生物でD-アミノ酸が認められる生物は一部の種またはグループに限定されている（図2）。なぜ筆者が海洋生命科学部でD-アミノ酸の研究を行っているのかというと、真核生物に稀なD-アミノ酸が海洋生物の多くの種から検出されていることに起因している。特にエビ・カニなどの甲殻類やシジミ・ハマグリなど一部の二枚貝類からは多量のD-アラニンが検出される。（同じ二枚貝類でもホタテやマガキには全く入っていないのが不思議である。）陸上生物から検出されるD-アミノ酸はごく微量である場合が多く、またD-アミノ酸の種類も海洋生物とは様相が異なっている。

甲殻類と一部の二枚貝類に認められるD-アラニンは、これらの生物において一体どんな働きをしているのだろうか？D-アラニンは海水の塩分濃度、すなわち浸透圧を変化させることにより増減することから、浸透圧調節に関わっていると推察されている。浸透圧調節に関与しているのは確かだと思われるが、L-アラニンやグリシンに比べると浸透圧変化に伴う量的変動

はごくわずかである。したがって、個人的には浸透圧調節に対するD-アラニンの貢献度は低いと考えている。何か他の生理機能を持っていてもよさそうだと思うのだが、それはいまだに謎のままである。

D-アラニンと並んで海洋生物に多く検出されるD-アミノ酸にD-アスパラギン酸がある。これはイカやタコの視神経やアカガイの足筋から見つかっている。D-アスパラギン酸は頭足類の神経系でのみ検出されるため、神経伝達に関与しているとの提案がなされている。また、アカガイでは低酸素下における量的変動からその場合のエネルギー源として利用されているのではないかと推察されている。当研究室の元教授である長久先生が三陸周辺海藻のD-アミノ酸について分布を調べたところ、ヒジキにL型に匹敵する量のD-アスパラギン酸が含まれていることを発見した。このような種はヒジキだけであり、他の海藻にはD-アスパラギン酸は検出されないか、検出されてもごく微量であった。面白いことに、いつ採集してもヒジキに含まれるD-アスパラギン酸はL型とほぼ1：1で存在している。この点は極めて面白い現象だと感じているが、

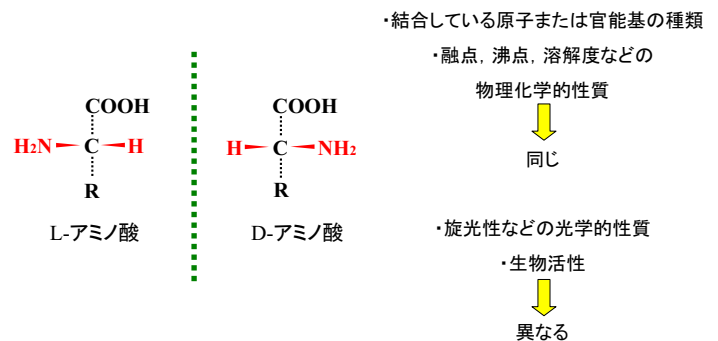


図1. アミノ酸の立体構造

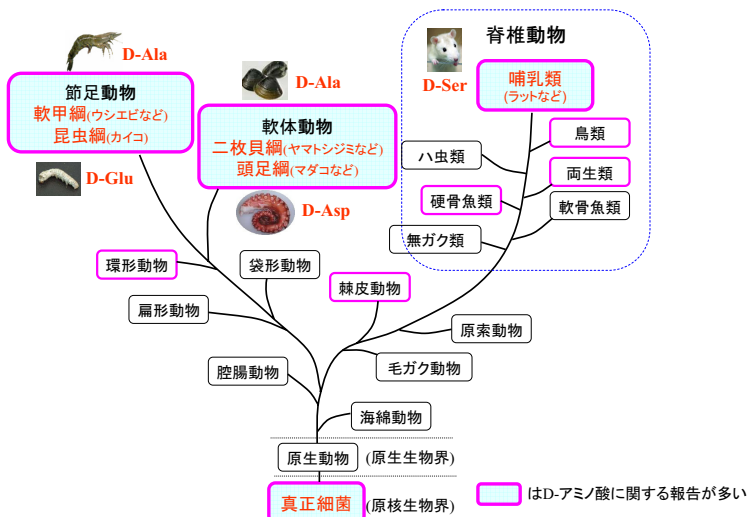


図2. D-アミノ酸の分布 (動物界)

やはり生理機能は謎のままである。

このように生理機能に関してはいまだに決め手を欠いている海洋生物のD-アミノ酸であるが、その一端を明らかにしたいと考え、現在D-アラニンやD-アスパラギン酸に対する抗体の作製を試みている。アミノ酸のような低分子物質に対する抗体の作製は容易でないようだが、うまくいけば抗原抗体反応を応用して組織内におけるD-アミノ酸の局在を明らかにすることができるため、生理機能を明らかにする手がかりが得られるのではないかと考えている。しかし、D-アミノ酸に対する抗体は売られていないため、自前で抗原を設計し小動物を用いて作製しなければならない。そのため多大な手間がかかるのが難点である。

これらのD-アミノ酸がどのようにして生合成されているかという点、「ラセマーゼという酵素による触媒反応によって生合成される」というのがD-アミノ酸研究者の一致した見解である。ラセマーゼ以外にもD-アミノ酸を代謝する酵素は存在するが、まずはどこかでラセマーゼによってD-アミノ酸が生合成されなければ、そのあとは続かないのである(図3)。「ラセマーゼなくしてD-アミノ酸なし」という訳である。そのためD-アミノ酸が検出されればラセマーゼがあるのではないかと私のような凡人は考えてしまう。実際にハマグリやアカガイからはラセマーゼ活性が認められている。そこで、ヒジキのD-アスパラギン酸もラセマーゼが関与しているのではないかと考えて研

究を続けてきたが、その証拠はつかめていない。ヒジキにおけるD-アスパラギン酸の起源も私の興味のあるところであり、今後明らかにしていきたい。

一方でL-アミノ酸には反応せずD-アミノ酸のみを分解するD-アミノ酸オキシダーゼという酵素も存在する。この酵素はD-アミノ酸の分解のみを担っているため、主としてD-アミノ酸の合成を担っているラセマーゼと同じ部位から同時に検出されることはないと考えている。実際に同じ部位から両酵素が検出されたという報告は聞かない。

筆者は現在ハマグリのアラニンラセマーゼの研究も行っている。シナハマグリではすべての部位からD-アラニンが検出されるが、その合成酵素であるアラニンラセマーゼの酵素活性はエラで極端に高く、その他の部位ではほとんど認められない。このことからエラに共生しているバクテリアに合成させたD-アラニンをハマグリが利用している可能性も考えられる。この点については慎重に検討中である。このような酵素の研究はきめ細やかな慎重さとともに、気合いと根性も若干必要である(場合によっては睡眠が削られるため)。サンプルから抽出した多くの酵素の混合系から目的の酵素以外のものを取り除いていく作業を精製というが、酵素は時とともに活性が失われていくので、精製の実験はスピードが要求される。短期集中型の実験であるが通常1週間はかかるので、最終段階で失敗するとその精神的なショックは大きい。

「(失われた)私の1週間を返してくれ!」という気になる。

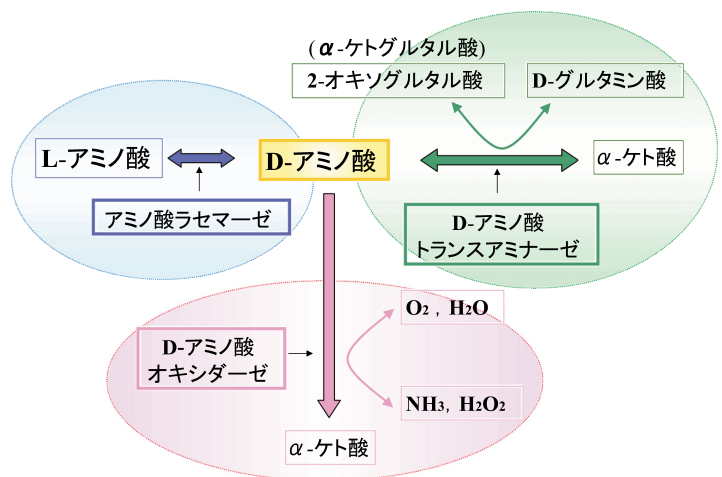


図3. D-アミノ酸代謝関連酵素

話がそれてしまったが、この文章を読んでいる皆さんはD-アミノ酸の味がL-アミノ酸と異なることをご存じだろうか？例えば化学調味料として有名なグルタミン酸ナトリウムはL型のみがうま味を呈し、D型ではうま味を感じることができないと言われている。今手元に「味の素」という有名な調味料をお持ちの方は手にとって成分表の表示を見ていただきたいのだが、必ず「L-グルタミン酸ナトリウム」のように「L-」という表示があるはずである。なぜならばその異性体であるD型はうま味を呈しないからである。20種類ある生体構成アミノ酸の中でもL-アラニンとグリシンは強い甘味を持っている。少し大げさかもしれないが、なめてみると一瞬砂糖なんじゃないか？と思うほど甘い。ホタテやエビを刺身で食べたときの味を思い出して欲しい。ほんのりと甘い味がするのを覚えていると思う。ホタテの閉殻筋やエビの筋肉にはグリシンやアラニンが多量に含まれている。エビ類についてはアラニンの半分近くがD型なのでD-アラニンの味を無視すること

研究紹介

渦鞭毛藻のオスとメス



講師 小檜山 篤 志

皆さんは、“渦鞭毛藻”と聞いて、どのような生き物を連想しますか？名前から推測すると、藻類であることは分かるかもしれませんが、それに、渦巻いた鞭毛が付いて？？？といったところでしょうか。これでほぼ正解ですが、イメージが沸いたでしょうか？渦鞭毛藻は数十マイクロメートル（1ミリメートルの1/10～1/3程度）の単細胞の藻類で、鞭毛を持って自由に泳ぎ回ることができる生き物です（図1）。渦鞭毛藻は一次生産者として重要な役割を果たし、湖から海まで、寒い地域から暑い地域までと、広い領域に生息しています。生活場所は様々で、遊泳生活を行うもの、海藻などに付着して生活するもの、サンゴやシャコガイに共生して生活するものなどがあります。栄養摂取形態もいろいろで、光合成でエネルギーを産生して生活するもの、他の藻類や細菌を食べて生活するもの

など、ユニークです。実は、小さな渦鞭毛藻の中には人間に対して大きな被害を与えるものもいます。一つ目は、皆さん耳にしたことがあるのではないのでしょうか？赤潮です。渦鞭毛藻のある種類では、大量発生することによって赤潮になります。赤潮は周辺環境を大きく変化させることから、水産増養殖へ被害を与えることになります。さらにもう一つは食中毒です。小さな渦鞭毛藻ですが、毒成分を産生するものがあります。毒を作る渦鞭毛藻を魚や貝などの他の生き物が食べることによって毒成分が蓄積し、さらにその生物を人間が食べることによって食中毒が引き起こされるのです。人間には毒として作用しますが、渦鞭毛藻にとっては毒として作用しないわけです。毒成分に何か渦鞭毛藻にとっての重要な機能があるのでしょうか？興味深い謎のひとつです。

渦鞭毛藻について少し述べさせてもらいましたが、どのような生き物かイメージが沸いたでしょうか？それでは、本題に入りたいと思います。私が主に扱っている渦鞭毛藻は*Alexandrium tamarense* (*A. tamarense*) と呼ばれる種類です (図1)。遊泳生活を行い、葉緑体を持って光合成によってエネルギーを産生する種です。この渦鞭毛藻は有毒種で、麻痺性貝毒の原因種としても知られています。先程も渦鞭毛藻の生活様式を述べましたが、生活環も研究対象として魅力的です。今回は、私が研究の対象としている*A. tamarense*の生活環に関係する渦鞭毛藻のオスとメスについて紹介したいと思います。*A. tamarense*の生活環は以下に述べる通りです。本生物は増殖に適した環境の場合は栄養細胞と呼ばれる細胞で無性的に二分裂で増殖します (図2)。この栄養細胞には一般の生物というオスとメスが存在します (渦鞭毛藻では交配型+と-と呼んでいます)。栄養細胞の核相は単相です。増殖に適した環境であれば増殖し続けますが、環境が悪くなると増殖をやめて配偶子を形成します。これら配偶子は交配型の異なる細胞同士で接合し、核相が複相となる遊泳接合子と呼ばれる大きな細胞を形成します。栄養細胞では鞭毛は1本ですが、この遊泳接合子は鞭毛を2本持って泳ぎます。しばらくすると遊泳接合子は鞭毛を切り離して海底へ沈み、植物のタネのような厚い細胞壁を持つ休眠孢子と呼ばれる細胞で悪環境を乗り越えます。一定の休眠期間を経た後、休眠孢子から鞭毛を2本持つ細胞が出芽し、その後、減数分裂を行うことによって交配型の異なる栄養細胞を再び形成して増殖し始めます。このように、*A. tamarense*の生活環には個体数を増大するためと考えられる無性生殖過程と、増殖に適さない環境を乗り越えるための策と考えられる有性生殖過程の両方が含まれます。私はこの中の有性生殖過程の不思議にとりつかれています。渦鞭毛藻の生活環で見ても、無性的に増殖することが可能であれば、より少ないエネルギーで個体数を増大させることが可能ではないでしょうか？では有性生殖は何のために行い、現在まで有性生殖形態が維持されているのでしょうか？この謎は完全には解明されていませんが、一つの理由として遺伝子を交雑させることが目的であると考えられています。無性的な二分裂で増殖した場合には、同一の遺伝子情報を持つ個体の集落がいくつ

かできると思われます。そうなった場合にはどうでしょう？環境が悪くなると、その環境に適応できない個体のグループは滅びてしまう可能性が高くなります。たとえ生き残ったグループがいたとしても、さらに別の要因によって滅びてしまうかもしれません。それが無性生殖のデメリットと考えられています。そこで有性生殖を行うと、複数の遺伝子の組み合わせをもつ個体が誕生することになり、それが繰り返されることにより、様々の環境悪化などに対応可能な個体が出現するものと思われます。このような理由のために、今日まで有性生殖が維持されていると考えられています。が、実際はどうなのでしょう？様々な生物の有性生殖を明らかにしていけばその解明の糸口が見えてくるかもしれません。話がそれてしまったので元に戻します。*A. tamarense*は先ほど述べたような生活環を持っていることは古くから報告されていましたが、その増殖や有性生殖の分子機構は不明なままでした。そこで私は、渦鞭毛藻の有性生殖の分子機構を明らかにしようと考え、渦鞭毛藻の交配型+と- (くだいようですが、オスとメスのようなものです)の違いを探ることにしました。そこで、無性生殖から有性生殖へとスイッチの切り替えが行われていると思われる、増殖を停止した細胞 (配偶子だと思われます) からmRNA (タン

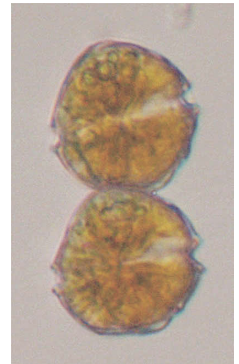


図1 *Alexandrium tamarense*.

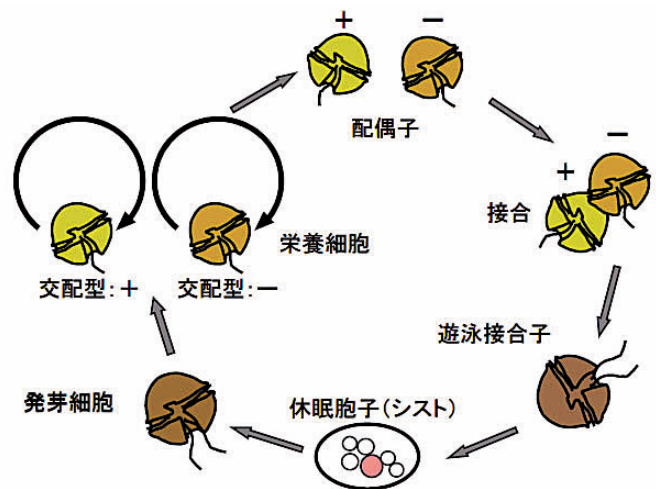


図2 *Alexandrium tamarense*の生活環の模式図。(分かりやすいように、交配型の異なる細胞間で色を変えてありますが、実際には同色です。)

パク質をコードするRNA)を取り出し、サブトラクティブハイブリダイゼーションと呼ばれる方法を使いました。この方法は簡単に説明すると、交配型“+”のmRNAから“-”のmRNAを引くことにより、“+”の細胞のみに存在するmRNAを残す方法です。この方法を用いて、一方の交配型でしか確認できない遺伝子を捉えることに成功し、この遺伝子をAT4-3としました。AT4-3は約700塩基(A, T, G, Cの塩基です)から成り、131アミノ酸をコードしているものと推測され、アミノ酸配列を調べてみると、N末端側(タンパク質の先頭側)には膜に結合するか、細胞の外へ分泌されるためのシグナルが存在することが分かりました。このことから、このタンパク質は、一方の交配型の細胞内で作り出され、細胞の外へ分泌されているか細胞膜にくっついた状態で存在しているものと思われる。もし分泌されているとしたら、性フェロモンのような役割を果たし、広い海で交配型の異なる細胞が出会う手助けをしているのかもしれませんが。一方、細胞膜にくっついた状態で存在しているのなら、交配型の異なる細胞が会って接合するときに機能するのかもしれませんが。現在、このタンパク質が分泌されているのか、細胞膜にあるのかを4年生と共に調べている最中です。また、調べていくうちに、このAT4-3という遺伝子は、両方の交配型の細胞の染色体DNA上に存在していることが判明しました。つまり、性別に関係なく遺伝情報は所有しているにもかかわらず、一方の交配型の細胞でしか発現しないようにコントロールされているわけです。実際に、両方の交配型の細胞のDNA上に存在するAT4-3のmRNAの転写を調節する領域を調べてみると、交配型“+”と“-”の細胞とでは塩基配列が異なる部分がありました。この部分で、AT4-3の発現を調節しているものと思われます。この分子は本来両方の交配型の細胞で発現していたのに、後になって片方の交配型の細胞でしか発現しなくなったのでしょうか?このタンパク質の機能解析を行うことができればその謎も明らかにできるかもしれませんが、これが渦鞭毛藻の交配型の出現につながったとしたら、オス

とメスの起源にも関与する可能性があるのかもしれませんが。渦鞭毛藻では、私達が見出したAT4-3が一方の交配型細胞で発現する遺伝子として初めて報告することができました。その他の生物では性を決定する遺伝子として、どのようなものが報告されているのでしょうか?これまでに、哺乳類では性決定遺伝子として、Y染色体上のSR_Yと呼ばれる遺伝子が単離されています。メダカではDMYという遺伝子が単離されています。メダカでは、DMYをメスに導入することによって、オスへと分化させることが可能です。では、オスとメスはどのようにして誕生したのでしょうか?これまでオスとメスの起源は不明なままでした。有性生殖は、大きさが同じ配偶子間で生殖を行う“同型配偶”が初めて誕生し、その後メス型の配偶子がやや大きい“異型配偶”が生じ、最終的に、全く運動できない卵と高い運動能力を持つ精子による“卵生殖”に発展したのと考えられています。しかしながら、同型配偶からどのように精子と卵、すなわちオスとメスが派生したのかは不明のままでした。そこで注目されたのが、なんと藻類のボルボックスです。ボルボックスは同型配偶から卵生殖までの幅広い有性生殖形態をとるために研究対象として注目され、卵生殖を行う種において精細胞特異的に発現する遺伝子、OTOKOGIが発見されました。その結果から、元々メスが存在し、そこからオスが派生したのと考えられました。実は渦鞭毛藻でも同型配偶および異型配偶を行うものが知られていること、分類上、ゾウリムシやマラリア原虫が含まれる原生動物に分類されることから、渦鞭毛藻を使ってオスとメスの違いを調べることはオスとメスの誕生を調べる上で非常に重要であると考えています。また、AT4-3はOTOKOGIやその他の性決定遺伝子とは似ていなかったことから、他の生物とは異なった性決定の仕組みがあるのかもしれませんが。以上紹介しましたように、渦鞭毛藻のオスとメスはまだ謎だらけです。これからもこの謎を解明すべく、研究室の学生と共に研究を続ける予定です。最後に、これまで一緒に研究を行ってきた卒業生に御礼申し上げます。