

暗い海に光をもたらす発光生物 クシクラゲが深海性発光物質の生産者であることを発見

名古屋大学高等研究院の別所-上原 学（べっしょ-うえはら まなぶ）特任助教らの研究グループは、米国モンレー湾水族館研究所、モンレー湾水族館、マサチューセッツ工科大学、マイアミ大学との国際共同研究により、有櫛動物クシクラゲが生物発光に使われる基質セレンテラジンを自身で合成できることを明らかにしました。

生物発光とは生物の体の中で起こる化学反応により光が生み出される現象です。生物が持つ発光物質は、通常、その生物に固有のものですが、海洋生物の多くはセレンテラジンという共通の発光物質を使っています。ノーベル賞の研究で注目を集めたオワンクラゲも、緑色蛍光タンパク質である GFP 以外にセレンテラジンを使って発光します。しかし、オワンクラゲは自身でセレンテラジンを合成することができず、餌から補給しています。オワンクラゲに限らず、発光エビ類や発光魚もセレンテラジンを合成することができず、多くの生物がセレンテラジンを餌から獲得していると考えられてきました。ところが、肝心のセレンテラジンの生産者についての研究はほとんどなく、これまでに2種類の深海性の甲殻類で報告されているだけでした。しかし、この2種の甲殻類は手に入れることが難しく、また実験室での飼育なども困難なため、セレンテラジンが生体内でどのように合成（生合成）されるかについてはほとんど研究がなされていません。

研究グループは、クシクラゲ類を飼育することに成功し、セレンテラジンを含まない餌を与えて数世代飼育しても、クシクラゲは発光能力を持ち、セレンテラジンを生合成できることを明らかにしました。クシクラゲは、実験室でも飼育が可能であり、ゲノム情報や分子生物学実験ツールなどが整備されつつあることから、セレンテラジン生合成の解明を行う上で理想的なモデル生物です。今後、セレンテラジン生合成遺伝子が解明されれば、外部からの発光物質の投与を必要としない完全自律性発光細胞の作成などバイオイメージング分野への貢献が期待できます。

この研究成果は、2020年12月10日付米国科学雑誌「iScience」に掲載されました。この研究は、David and Lucile Packard Foundation、Monterey Bay Aquarium Foundation、US National Science Foundation（DEB-1542679, MCB-1818132）、Arnold and Mabel Beckman Foundationの支援のもとで行われたものです。

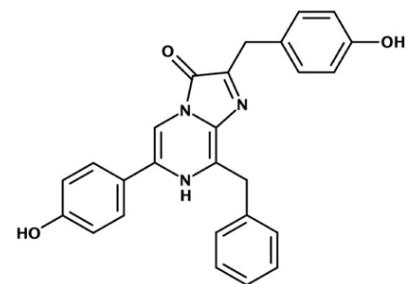
【ポイント】

- ・ 海洋に生息する多くの発光生物はセレンテラジンという化学物質を使って発光する。
- ・ クラゲや魚類など、セレンテラジンを発光に使う多くの生物はこれを餌から得ており、誰が、どのようにセレンテラジンを作るのかについてはわかっていなかった。
- ・ 今回、飼育実験によりクシクラゲ類の2種がセレンテラジンを生合成できることがわかった。
- ・ 本研究で用いたクシクラゲは、ゲノム情報や遺伝学ツールも整備されつつあり、セレンテラジンの生合成研究における理想的な実験動物となりうる。
- ・ セレンテラジンの生合成経路が解明されれば、バイオイメージング分野への貢献が期待できる。

【研究背景と内容】

夜空に瞬く星のように、海の中には溢れるほどの光の世界が広がっています。生き物が作り出す幻想的な光は生物発光と呼ばれています。夜の海や深海など、暗闇の中では少しの光でもとても明るく見えるため、様々な生物が発光能力を進化させています。実際に、海洋生物の8割近くが発光することが知られています。

生物発光は生体内で起こる化学反応で、光を生み出す反応が起こるたびに発光物質は消費されていきます。光る生物は種に固有の発光物質を持っており、これは生物発光が進化の歴史の中で独自に獲得されたことを示唆しています。ホタルやキノコ、ミミズなど、これまでに研究された陸上発光生物はみな、全く異なる発光物質を持っていることがわかっています。一方で、海洋生物の多



くはセレンテラジン(図1)という共通の発光物質を使っています。セレンテラジンは、オワンクラゲから初めて見つかかり、その後、サンゴやイカ、魚など9つの門に属する20以上の動物群で、発光物質として見つかってきました。ところが、すべての光る生物が、発光物質のセレンテラジンを産生(生合成)できるわけではありません。たとえば、水族館で飼育されているオワンクラゲは徐々に発光しなくなります。これはセレンテラジンが枯渇するためであり、餌にセレンテラジンを混ぜて与えることで、再び発光するようになります。したがって、これらの生物が光り続けるためには、外部から獲得する、すなわち餌からセレンテラジンを補給し続ける必要があります。

図1 セレンテラジンの化学構造

これまでに、セレンテラジンを生合成できる生物は深海性カイアシ類の *Metridia pacifica* と深海性のエビ *Systellaspis debilis* しか見つかっていませんでした。しかし、これらの動物は入手も難しく、飼育も困難なため、セレンテラジンの生合成経路を研究する術がありませんでした。今回、私たち日米の国際研究チームは水族館との共同研究により、少なくとも2種のクシクラゲ（注1）、すなわちキタカブトクラゲ (*Bolinopsis infundibulum*) とカブトクラゲの仲間 (*Mnemiopsis leidyi*、以下 *M. leidyi*) (図2) がセレンテラジンを生合成できることを明らかにしました。

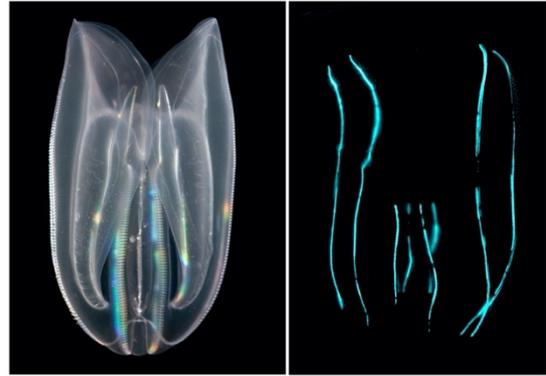


図2 *Mnemiopsis leidyi* (左) の発光 (右)

私たちは、まず、野生のクシクラゲがセレンテラジンを持つことを発光反応試験（酵素を用いた検出法）と質量分析法を用いて調べました。発光することが知られているウリクラゲの仲間 (*Beroe*) や *M. leidyi* からはセレンテラジンが検出されましたが、発光しないテマリクラゲ (*Pleurobrachia*) はセレンテラジンを持たないことがわかりました。

米国モンレー湾水族館は太平洋に生息する様々なクシクラゲの飼育に挑戦しており、最近、発光するキタカブトクラゲと発光しないフウセンクラゲ (*Hormiphora californensis*) を継代飼育することに成功しました。私たちは、水族館の協力を得てこれら2種のクシクラゲがセレンテラジン生合成能力を有するのかについて調べました。およそ20 cm ほどの大きさの生体のクシクラゲは、直径400 μm 程度の卵を一度に1000個以上も産みます。この小さな卵も刺激により発光するため、卵の成分には母親が持つセレンテラジンが分け与えられていると考えられます。そこで、孫の世代まで飼育することで、セレンテラジンを含む餌を食べている野生の親個体が持っていたセレンテラジンの混入の可能性が排除できると考えました。さらに、セレンテラジンを含まず発光しないエビやミズクラゲなどを与えて飼育することで、子供・孫の世代では餌からセレンテラジンを補給できないようにしました。興味深いことに、3世代目のキタカブトクラゲを暗闇で観察したところ、8本の櫛板の背後に並ぶ発光細胞が青く光る様子が観察され、生物発光の能力を保つことがわかりました。さらに、これらの個体からも上記と同様の手法によりセレンテラジンが検出されました。一方で、餌生物やフウセンクラゲは発光せず、セレンテラジンも検出されませんでした（図3左）。さらに、研究を進めていく中で、*M. leidyi* を飼育する米国フロリダ州マイアミ大学のブラウン博士が研究グループに加わり、飼育下で15世代目になる *M. leidyi* が発光し、セレンテラジンを持つことを明らかにしました（図3右）。

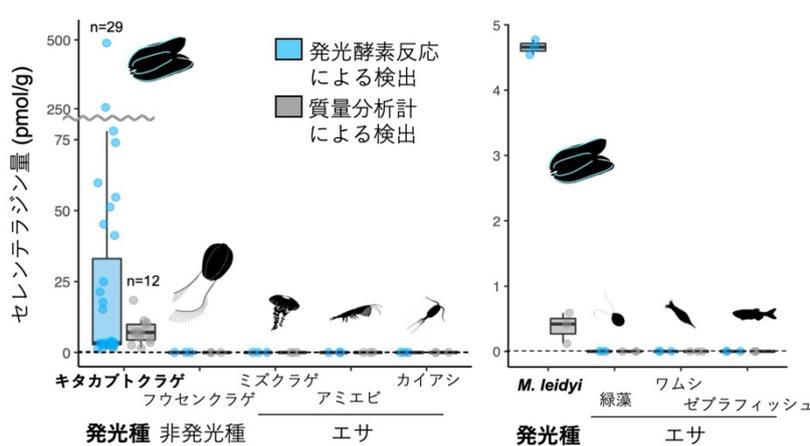


図3 セレンテラジン含有量

(左) モントレー湾水族館で飼育されたキタカブトクラゲとフウセンクラゲ（非発光）とそのエサ生物。(右) マイアミ大学で飼育された *M. leidyi* とそのエサ生物。(青) 酵素を用いた検出法による検出値、(灰) 質量分析計による定量値。

【成果の意義】

本研究から、少なくとも 2 種の発光性クシクラゲは、発光物質であるセレンテラジンを自身で生合成できることが証明されました。

これまでに、セレンテラジンを生合成できる生物として発見されたのは、深海に棲息する 2 種類の甲殻類だけでした。甲殻類とクシクラゲという進化的に離れたグループが全く同じ化合物を作ることは、生物発光の海洋生態系における重要性を表しています。さらにこの発見は、化合物の収斂進化（注2）という未開拓な研究領域に光をあてました。すなわち、本研究成果は、進化の過程で複数の系統が発光という機能を実現するための最適な化学構造を模索した結果、全く同一の化学構造にたどり着いたことを見出したものであり、化合物レベルでの収斂進化がなぜ起こるのか、という新しい学術的問いが生まれました。

セレンテラジンを生合成できる深海性甲殻類は入手することも飼育することも難しく、実験動物としては理想的とは言えませんでした。一方で、クシクラゲは実験動物としての地位を築きつつあります。クシクラゲは多細胞動物の中で最も古く、我々と分岐した動物のひとつと考えられており、進化学的に注目されているグループです。浅い海で簡単に採集できる *M. leidyi* は、マイアミ大学のブラウン博士らにより、飼育系が確立され、2013年にはゲノム解読も完了しています。さらに、モルフォリノによる遺伝子発現の制御技術などの実験手法が確立されつつあります。本研究を第一歩として将来的には、クシクラゲの研究からセレンテラジンの生合成経路が明らかになると大いに期待できます。

発光イメージングツール（注3）として広く普及しているウミシイタケのルシフェラーゼや深海エビのルシフェラーゼ、オワンクラゲのイクオリンなどの発光反応に使われる発光物質としてセレンテラジンは、生命科学研究に大きく貢献してきました。セレンテラジンの生合成を担う遺伝子が解明されれば、これらをルシフェラーゼなどの遺伝子と合わせて導入することで、外部からのセレンテラジンの供給を必要としない自立型発光細胞・生物を作ることができます（図4）。これまでの細胞・生体イメージングでは、培地交換や注射によりセレンテラジンを供給する必要がありましたが、自立型発光細胞が実現すれば、より長期間の観察を必要とする、老化やガンの進行に関わる研究や、生体内で血液が届きにくい組織のイメージングも可能になるかもしれません。

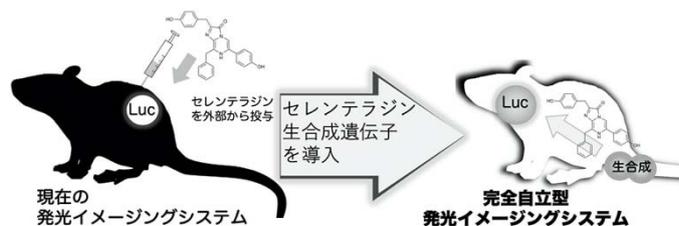


図4 発光イメージング技術の将来

(左)現在の発光イメージングシステムでは、発光タンパク質 (Luc) の遺伝子を持つ細胞や動物、植物に外部からセレンテラジンを供給する必要がある。(右)セレンテラジン生合成遺伝子が解明され、この遺伝子を導入できれば、セレンテラジンを自己生産できるイメージングシステムの開発が可能になる。

【用語説明】

注1 クシクラゲ:有櫛動物門に属する生物であり、刺胞動物門のクラゲとは異なり刺胞を持たない。体表に並ぶ8列の櫛板を動かして泳ぐ際に、構造色として虹色の反射が見える(図2左)が、これは生物発光ではない。暗闇で刺激することで櫛板の裏にある発光細胞が青緑色に発光する様子が観察される(図2右)。

クシクラゲ類は櫛板に生殖器を持ち、ここから放精・放卵を行う。そして、卵から遊泳型の個体が発生する(図5)。刺胞動物門のクラゲ類は、固着性のポリプ世代などを経て、遊泳性のいわゆる「クラゲ」に発生する。このように発生学的にもクラゲとクシクラゲは全く異なる動物である。

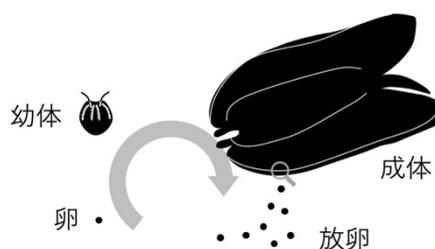


図5 クシクラゲの生活環

注2 収斂進化:異なる系統で類似の形質が進化すること。クシクラゲやクラゲ、甲殻類、魚類などで「発光する」という機能的形質は、それぞれの光らなかつた祖先から独立に進化した。さらに、本研究から、クシクラゲと深海性カイアシ類の *Metridia pacifica* と深海性のエビ *Systellaspis debilis* はセレンテラジンという化学構造が同一の分子を合成できるように進化したことがわかった。

注3 発光イメージング:細胞や個体を生きた状態で、遺伝子やタンパク質を観察する技術。緑色蛍光タンパク質 (GFP) などを用いた蛍光イメージングには、強力な励起光が必要であり、過度な光照射により蛍光色素の退色や、光障害という細胞にダメージが蓄積するといった欠点がある。また、励起光に使われる波長域は生体で吸収されやすく、深部の観察には不向きである。一方で、発光イメージングでは、励起光を必要とせず、酵素と基質による化学発光により検出するためこのようなデメリットはないが、高価な基質(セレンテラジンなど)を供給し続ける必要があるといった課題がある。セレンテラジンの生合成遺伝子を発光タンパク質の遺伝子と合わせて導入することで、発光イメージングの欠点を克服できるようになると考えられる。

【論文情報】

雑誌名 : iScience

論文タイトル : Evidence for *de novo* biosynthesis of the luminous substrate coelenterazine in ctenophores

著者 : Manabu Bessho-Uehara (名古屋大学 特任助教) , Wentao Huang, Wyatt L. Patry, William E. Browne, Jing-Ke Weng, Steven H.D. Haddock

D O I : 10.1016/j.isci.2020.101859