

TOPICS

盗葉緑体により光合成する囊舌目ウミウシ

名古屋大学 遺伝子実験施設

山本義治

1. はじめに

ウミウシ(海牛)とは「貝殻を失った巻貝のなかま」であるとよく言われる。広義では後鰓類全般をさしアメフラシやクリオネが含まれる。英語ではsea slug(海なめくじ)と呼ばれる。色や形は様々で、擬態がうまくなかなか見つけられないくらい目立たないものから驚くほど派手なものまでいる。愛嬌のある外観^{*1}の種も多く、近年ではダイバーに人気があるとのことである^{*2}。

こんなウミウシであるが、中には盗葉緑体(kleptoplasty)を行い光合成する種がいるということで興味を持ち昨年頃から研究を開始した。研究体制としては千葉大・海洋バイオの平野研、北大・室蘭臨海実験所の本村研、奈良女子大・理の遊佐研そして著者が所属する小保方研(名大・遺伝子、京都府大・生命環境)の連携で進められている。まだ始めたばかりで材料選定などを行っている段階ではあるが、将来的には現代生物学的な解析に持ち込みたいと考えている。高等植物においては成熟した系であるオルガネラ間相互作用やゲノム間相互作用の初期過程を垣間見る機会を与えてくれるのではないかと筆者らは期待している。

盗葉緑体というのは植物の葉緑体を自身の細胞内に取込み維持する、という現象である。当代で獲得され、次世代には遺伝しない。ウミウシにとってのメリットとしては、光合成によりエネルギーが得られ、また餌の海藻と同じ色になるため保護色になる、という点が挙げられる。実験室で飼育しているのを見ていると、餌が無くても数ヶ月生存することもあるので光合成出来るということで相当助かっているのかも知れない。

2. 研究小史

囊舌目ウミウシの*Elysia viridis*(図1に近縁種を示した)は全身濃い緑色の体色をしているが、これから色素としてクロロフィルが抽出された、という報告が1876年になされている¹⁾。1883年にはその*E. viridis*から直径2-3.5 μmの生き物(あるいは構造物)が単離されている²⁾。この観察は緑藻との共生を示唆するものであった。

1965年に岡山大学の川口四郎らはハワイ大学臨海実験所があるココナツ島より採集した囊舌目*Placobranchus*属(図2)を持ち帰り、走査型電子顕微鏡観察を行ったとこ



図1 ヒラミルミドリガイ (*Elysia trisinuata*)
E. viridis と同属の種。全身緑色であり、餌のミルと同じ色をしている。神奈川県三崎にて採取。体長は2 cm。



図2 チドリミドリガイ (*Plakobranchus ocellatus*)
中央上部に頭(右側)からシッポの方まで切れ込みが走っているが、これは両側から巻き上がっている二枚の側足(羽根状の器官)の合わせ目である。側足を開くと内側は緑色になっている。沖縄県瀬底にて採取。体長2 cm。

*1 私見によれば体長が2 cm程度までなら「可愛い」と思うことに何の抵抗も無いが、5 cmを超えると難しいこともある。20 cmくらいになるとグロテスクと言った方がよいような印象である。小さい方で言うと1 mmのウミウシは水槽にいても「見えない」ので、可愛いかどうかというところまでいかない。ストライクゾーンは3-20 mmといったところであろうか(?)。

*2 ウミウシは専門家が少なく種名が付けられていないものも珍しくないが、そのような場合でもダイバーが付けた俗名が流通していることがある。図鑑に和名があるが学名が添えられていないときはそのような状況である場合もある。

ろ、「ラン藻」が細胞内共生していることを発見し報告している³⁾。この報告では共生体の種の同定までは出来なかったが、構造から見てラン藻であろうと推察している。ところが、同年岡山大学玉野臨海実験所にて採集された囊舌目 *Elysia atroviridis* (クロミドリガイ、*E. viridis* の近縁種) の電子顕微鏡観察を餌である緑藻ミル (*Codium fragile*) と共に行ったところ、ウミウシ細胞内に存在する共生体はラン藻ではなくミルの葉緑体であろうと推論するに至った⁴⁾。これが盗葉緑体の発見である。

その後は主にイギリスで生理学的な研究が進み、1969年には囊舌目 *Tridachia crispata* などを用いて $H^{14}CO_3$ が光依存的に葉緑体を保持する組織へ取込まれ、還元された標識炭素が葉緑体を持たない組織に転流すること⁵⁾が報告されている。すなわち、取り込まれた葉緑体は確かに機能しており、光合成により作られた糖分は宿主ウミウシに供給されていたのである。

こういった発見に触発されてのことかどうかは不明ではあるが、1969年には哺乳類の細胞への葉緑体導入実験も報告されている⁶⁾。この試みではハウレンソウやスマレから葉緑体を調製しマウス繊維芽細胞と共存させたと、ファゴサイトーシスによって効率よく取り込まれたという。70-90%の繊維芽細胞において細胞あたり1-6個の葉緑体を取り込まれ、5日間保持されたそうである。

他の生物からオルガネラである葉緑体を奪い取り自分の細胞に取込む、という現象をどう呼ぶか、という事に関して川口らの初報では *symbiosis* という表現が用いられた。その後 *chloroplast symbiosis*, *chloroplast farming* といった用語が用いられたが、現在では *kleptoplasty*, *kleptoplast* ということで落ち着いているようである。前者が現象の呼び名で後者はウミウシ細胞内にあるオルガネラの呼称である。

盗葉緑体は囊舌目ウミウシ以外でも見付かっており、絨毛虫 *Mesodinium rubrum* (アカシオウズムシ) 及び *Strombidium capitatum*、渦鞭毛藻 *Karenia* 属、*Karlodinium* 属、*Amphidinium* 属等、そして有孔虫 *Nonionella stella* での報告がある。また、絨毛虫 *M. rubrum* (*Myrionecta rubra* とも) の場合には核もクリプト藻から盗むという現象が2006年に報告されている⁷⁾。ネイチャー誌の表紙を飾った論文であり御記憶の方もおられると思う。この現象は論文では *karyoklepty* (盗核) と呼ばれている。また、渦鞭毛藻 *Dinophysis acuminata* はクリプト藻由来の盗葉緑体を保持するが、直接クリプト藻を捕食するのではなく、クリプト藻由来の盗葉緑体を持つ *M. rubrum* からさらに

「盗む」という⁸⁾。

上記のように盗葉緑体という現象は広がりを見せつつあるが、多細胞動物で盗葉緑体を行い光合成する生物として知られているのはいまのところ囊舌目ウミウシだけである。

3. どうやって葉緑体を取り込むのか？

ウミウシの中でも囊舌目は歯舌と呼ばれる歯を持っており、これを用いて藻類の細胞に穴を開け細胞質を吸い取る。餌のミル、ハネモ、イワツタなどは多核体の大きな細胞であるので効率よく吸い取ることが出来る。吸い取られた葉緑体は胃では消化されずに胃から繋がる中腸腺と呼ばれる消化吸収及び栄養輸送を担う網状組織に運ばれ、中腸腺の細胞内に取り込まれると言われている(図3)。取込みの過程については不明な点が多い。

ちなみに、ウミウシの中には葉緑体とは別の物を「盗む」ものもいる。ミノウミウシ類(裸鰓目)の多くの種はイソギンチャクやヒドロ虫などが持つ刺胞(防御用の毒を蓄える膜構造物)を破裂させずそのままの形で中腸腺から刺胞囊細胞に運び、ウミウシの防御に役立てるといふ。

4. 盗葉緑体に用いられる葉緑体の特性

ウミウシは葉緑体を取込み、自分の細胞内で光合成させることが出来るだけでなく、種によっては取り込んだ後、半年もの間ウミウシ体内で葉緑体を維持することが出来る。何故そのようなことが可能なのか議論されてきたが、理由として挙げられているのは葉緑体を供給する側であるミル属、イワツタ属、フシナシドロ属等の管状緑藻の葉緑体の自立性と安定性である。



図3 ミドリアマモウミウシ (*Placida* sp. sensu Baba, 1986)

体色が透明なので緑色の網状組織(中腸腺)がよく見える。神奈川県三崎にて採取。体長5mm。

まず、自立性というのは核ゲノムへの依存度が低いという意味である。表1に示したように、フシナシミドロの葉緑体ゲノムは陸上植物のものとは比べるとゲノム退化がそれほど進行しておらず、充実した遺伝子構成を持っている。従って、核ゲノムに対する依存度が陸上植物より低いと考えられ、核ゲノムから引き離された状態での葉緑体の維持には有利である。

安定性に関しては、例えばミルの単離葉緑体は試験管内で数日間炭酸固定能を保持し(普通は数時間で活性を失う)、また浸透圧ストレスにも強いことが確認されている¹⁰⁾。界面活性剤や熱処理、超音波処理に対しても抵抗性があるという報告もあり、物理的・化学的に「強い」と言われている。こういった性質も異種宿主での長期間に渡る保持のためには有利な特徴であると考えられている。

それにしても藻類の核情報なしに半年もの間(最長記録では14ヶ月⁹⁾) 盗葉緑体を維持することが可能であるのは不思議である。藻類の核は取り込まれていないことは*E. chroloptica*を用いたサザン解析により確認されてはいる¹¹⁾が、種によっては盗核が行われている可能性や、また何らかの形で藻類の核の情報がウミウシの細胞へ伝わっている可能性はあるかも知れない。

5. 私たちの活動

日本で発見されたウミウシの盗葉緑体であるが、その後の研究は主に英米で進展した。従って私たちが盗葉緑体研究を始めるにあたり、どの種を研究材料に用いることが出来るのか検討する必要があった。そこで、神奈川県三崎、和歌山県白浜、沖縄県瀬底(いずれも大学の臨海実

表1 フシナシミドロの葉緑体ゲノムの自立性

遺伝子	フシナシミドロ	タバコ	他の陸上植物
<i>rbcS</i>	+	-	-
<i>psaD</i>	+	-	-
<i>petF</i>	+	-	+
<i>atpD</i>	+	-	-
<i>chlB</i>	+	-	+
<i>dnaB</i>	+	-	-
<i>groEL</i>	+	-	-

Rumpho らのレビュー⁹⁾より抜粋した。“-”の場合は核ゲノムにコードされている。フシナシミドロは海産の *Vaucheria litorea*。

験所がある)において囊舌目ウミウシを採集し、まずは Fv/Fm 値によるスクリーニングを行うことにした。現在まで 12種の囊舌目を採集・解析し、そのうち8種が活性のあるクロロフィルを持つことを明らかにした。どの種に光合成活性があるのか確認しておくことは重要であろうと考えており、カタログ化を進めている。今後の実験材料選定の基準としては、長期間(盗)葉緑体を保持することが出来ること、ウミウシの入手が容易であること、餌となる海藻が分かっており培養が容易で出来れば遺伝子操作が可能なこと、等を想定している。今後さらに検討を加え、よい実験系を構築していきたいと考えている。

6. 最後に

本研究は、はっきりした社会要請を受けて、ということもなく好奇心を動機とした自発的な共同研究として少しずつ進められている。そんな中、今年5月に行われた光合成研究会年会においてベストポスター賞を頂いたことは小保方研究室一同並びに共同研究グループにとって大いに励みとなった。代表してお礼申し上げたい。

参考文献

- de Negri, A., and de Negri, G. (1876) Farbstoff aus *Elysia viridis*, *Ber. Deut. Chem. Gesellsch.* 9, 84.
- Brandt, K. (1883) Über die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren, *Mitt. Zool. Stn. Neapel* 4, 191-302.
- Kawaguti, S., Yamamoto, M., and Kamishima, Y. (1965) Electron microscopy on the symbiosis between blue-green algae and an Opisthobranch, Placobranchus, *Proc. Japan Acad.* 41, 614-617.
- Kawaguti, S., and Yamasu, T. (1965) Electron microscopy on the symbiosis between an Elysoid Gastropod and chloroplasts of a green alga, *Biol. J. Okayama Univ.* 11, 57-65.
- Trench, R. K. (1969) Chloroplasts as functional endosymbionts in the mollusc *Tridachia crispata* (Bérgh), (Opisthobranchia, Sacoglossa), *Nature* 222, 1071-1072.
- Nass, M. M. K. (1969) Uptake of isolated chloroplasts by mammalian cells, *Science* 165, 1128-1131.
- Johnson, M. D., Oldach, D., Delwiche, C. F., and Stoecker, D. K. (2006) Retention of transcriptionally active cryptophyte nuclei by the ciliate *Myrionecta*

- rubra*, *Nature* 445, 426–428.
8. Park, M. G., Kim, S., Kim, H. S., Myung, G., Kang, Y. G., and Yih, W. (2006) First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*, *Aquat. Microb. Ecol.* 45, 101–106.
 9. Rumpho, M. E., Dastoor, F. P., Manhart, J. R., and Lee, J. (2006) The kleptoplast, in *The structure and function of plastids* (Wise, R. R., and Hooper, J. K., Eds.) pp 451–473, Springer, Dordrecht.
 10. Gallop, A., Bartrop, J., and Smith, D. C. (1980) The biology of chloroplast acquisition by *Elysia viridis*, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 207, 335–349.
 11. Green, B. J., Li, W. Y., Manhart, J. R., Fox, T. C., Summer, E. J., Kennedy, R. A., Pierce, S. K., and Rumpho, M. E. (2000) Mollusc-algal chloroplast endosymbiosis. Photosynthesis, thylakoid protein maintenance, and chloroplast gene expression continue for many months in the absence of the algal nucleus, *Plant Physiol.* 124, 331–342.