

共生藻を持つ群体ホヤ およびシャコガイの 紫外線防御

石倉 正治
丸山 正

(株)海洋バイオテクノロジー研究所

The UV sunscreen of ascidian and giant clam that have microalgal symbiont

M. Ishikura · T. Maruyama

はじめに

紫外線が生物にとって有害である事は良く知られている。紫外線(UV)領域の光の中で 290nm よりも波長が短い光(UV-C)はオゾン層により吸収されてしまう。このために、現実には生物体にとって有害となるのは UV-B の一部(290-320nm)と UV-A (320-400nm)である。低緯度である熱帯地方では太陽光の光路長が短いことと赤道付近でのオゾン層が薄いことによって、中緯度地方と比較して強い紫外線が降り注ぐ(Smith and Baker 1979)。一方で低緯度の海域では微細藻類(共生藻)と無脊椎動物(宿主)の共生が多く見受けられる。これらの共生関係においては、宿主はその栄養源の一部を共生体の光合成に依存していることが知られており(Klumpp *et al.* 1992)、共生藻および宿主は低緯度地方の強力な紫外線に曝されることになる。そこで、我々は共生藻を持つ群体ホヤおよびシャコガイを用いてこれらの生物の紫外線防御機構について、主に紫外線吸収物質による遮蔽の観点から研究した。

紫外線照射の共生藻光合成への影響

図1に UV-A、UV-B 照射がヒメシャコガイから単離した共生渦鞭毛藻の光合成による酸素発生に及ぼす影響を調べた結果を示す。酸素発生は、照射する UV の強度および照射時間に伴い減少した。パラオの快晴の日中での紫外線強度は $312 \pm 6\text{nm}$ で $0.94\text{--}0.96\text{Wm}^{-2}$ 、 $365 \pm 6\text{nm}$ で $3.4\text{--}5.3\text{Wm}^{-2}$ であり、本実験で用いた程度の UV 強度でも共生渦鞭毛藻の光合成が障害を受ける可能性があることが示唆された。そして強度 2.4Wm^{-2} の UV-B を 15 分間照射した場

合、光合成は完全に阻害された。一方で、図2に示したようにヒメシャコガイから切り出した外套膜に強度 2.4Wm^{-2} の UV-B を 15 分間照射した後、この外套膜から共生渦鞭毛藻を単離して光合成を測定した場合の光合成は UV-B 未照射の共生渦鞭毛藻の光合成速度とほとんど同じであった(Ishikura *et al.* 1997)。*Lissoclinum patella* (群体ホヤ)から単離したプロクロロン(共生体)についても単離したプロクロロンの光合成は紫外線の照射によって阻害を受けたが、宿主体内では紫外線の悪影響から守られていた(Dionisio-Sese *et al.* 1997)。

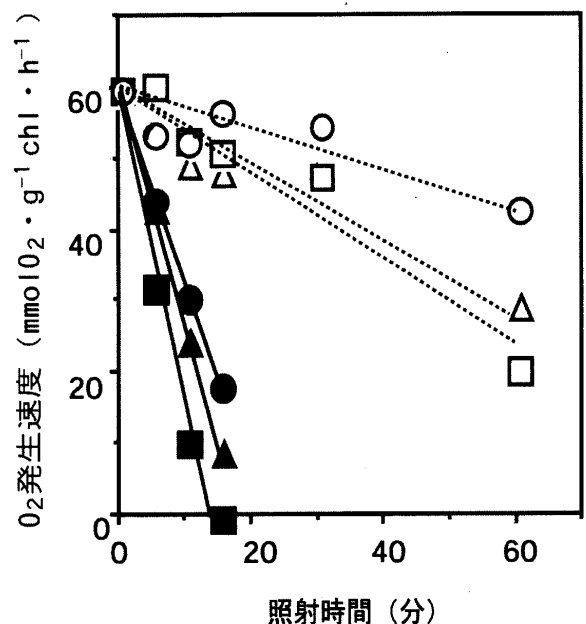


図1. UV照射が共生渦鞭毛藻光合成による酸素発生に及ぼす影響
UV-A (365 ± 6nm) 強度: 0.85Wm^{-2} (○), 2.6Wm^{-2} (△), 4.3Wm^{-2} (□)、
UV-B (312 ± 6nm) 強度: 0.48Wm^{-2} (●), 1.4Wm^{-2} (▲), 2.4Wm^{-2} (■)

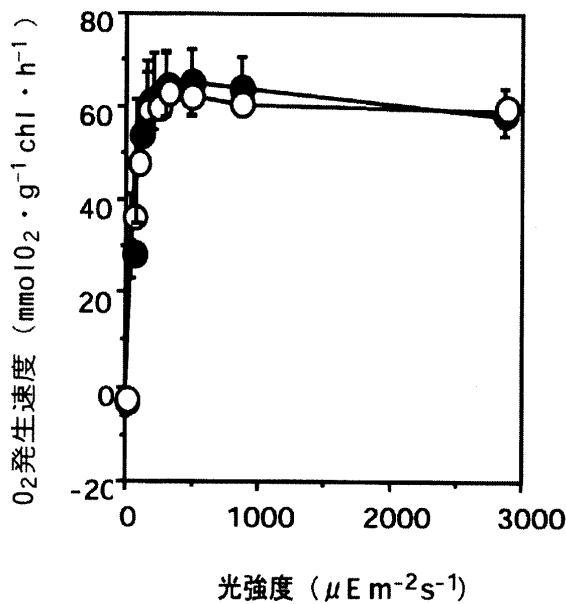


図2. ヒメシャコガイから単離した共生渦鞭毛藻の光-光合成曲線
 ● : UV-B未照射の共生渦鞭毛藻
 ○ : UV-B (312±6nmで2.4Wm²を15分間)照射後、外套膜から単離した共生渦鞭毛藻。棒線は標準偏差を示す。(n=3)

群体ホヤの皮囊の紫外線透過性

群体ホヤ *L. patella* は宿主個虫およびプロクロロンを覆う上側の皮囊がほぼ透明であるという特徴を有している。この透明な皮囊を通して光合成に必要な可視光がプロクロロンへと到達している。この透明な皮囊の切片を作製し、この皮囊の紫外可視吸収スペクトルを測定した結果を図 3A に示す。この一見透明に見えるホヤの皮囊が、実は UV-B 領域を効果的に吸収していることが分かる。また、この皮囊から有機溶媒(メタノール:テトラヒドロフラン=4:1)で抽出した抽出物の紫外可視吸収スペクトルを図 3B に示す。皮囊の UV-B 領域の紫外線吸収はこの有機溶媒による抽出物の吸収とほぼ一致した。このことから、ホヤの皮囊が持つ紫外線吸収はこの抽出物に含まれる物質によると考えられた。

群体ホヤ、シャコガイ中の紫外線吸収物質

L. patella 上側の皮囊からの有機溶媒抽出物より、UV-B 領域での吸収を頼りに紫外線吸収物質の単離・構造決定を行ったところ、このホヤには既知化

合物であるマイコスポリン様アミノ酸(MAAs)と呼ばれる紫外線吸収物質、マイコスポリン-グリシン(極大吸収波長 λ_{max} 310nm)、パリシン(λ_{max} 320nm)、シノリン(λ_{max} 334nm)が含まれていることが明らかとなった。この紫外線吸収物質、MAAs は、310-360nm に吸収極大を持つ一方で光合成に必要な可視領域に吸収を持たないという特徴を備えており、多くの低緯度地方、中緯度地方の海洋生物から検出されている(Dunlap and Shick 1998)。このホヤの例のように吸収極大の異なる数種類の紫外線吸収物質を持つことは、有害な紫外線を広範囲にわたり遮蔽するためには有用であると考えられる。またプロクロロンおよび宿主下側の皮囊からも MAAs が検出されたが、その濃度は可溶性蛋白質あたりと比較した場合、上側皮囊に含まれる MAAs 濃度の半分以下であり、しかもシノリンのみであった。今回の実験ではプロクロロン自身も MAAs を含んでいるにもかかわらず、紫外線からの防御には充分でないことが判明した。これはプロクロロンの細胞中に含まれる MAAs の量が充分でなかったためとも考

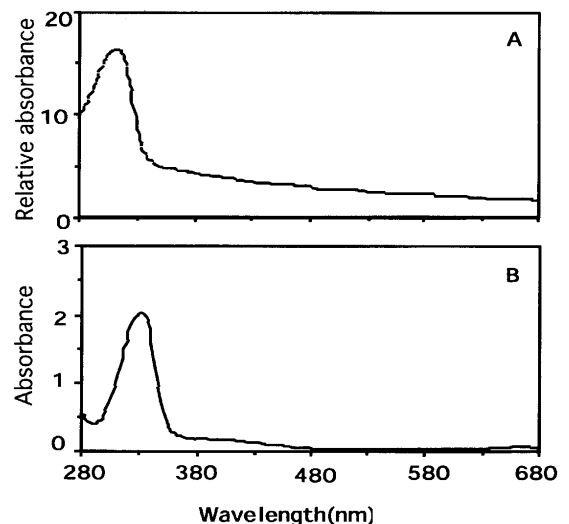


図3. *L. patella* サンプルの紫外可視吸収スペクトル
 A : *L. patella* 上側被囊の切片
 B : 上側被囊からのメタノール:テトラヒドロフラン(4:1)抽出物

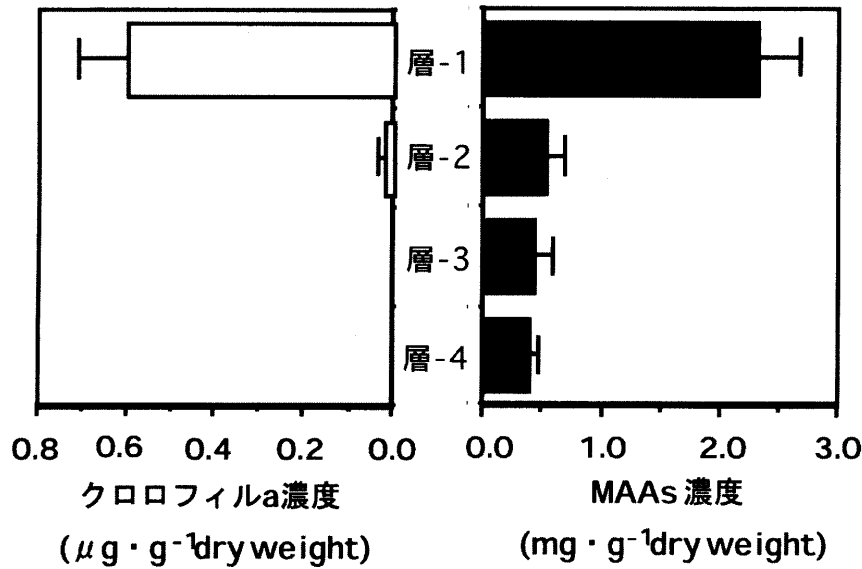


図4. ヒレナシシャコガイ外套膜でのクロロフィル濃度 (■) および MAAs 濃度 (□) と表面からの深さの関係。各層は表層から水平方向に分けて最表層1～最下層4へと順に付けた。棒線は標準偏差を示す。(n=3)

えられるが、プロクロロンの細胞の大きさが小さすぎるために紫外線を十分に吸収することができなかったとも考えられる(Ravan 1991)。また、MAAsはシキミ酸経路で生合成されるため、動物は合成できないこと、プロクロロンからも宿主皮囊から検出されたシノリンが検出されたことから、宿主から出された MAAs はプロクロロンが合成し、これが宿

主に移行した可能性が考えられる。ホヤの上側皮囊に最も多くの MAAs が分布し、その種類も多いことは、MAAs のサンスクリーンとしての機能を考えればうなずける。また、同様の方法により、各種シャコガイの外套膜中にも同レベルの濃度の MAAs が存在していることが確認された。また、シャコガイから単離した共生渦鞭毛藻中の MAAs 量を調べた結

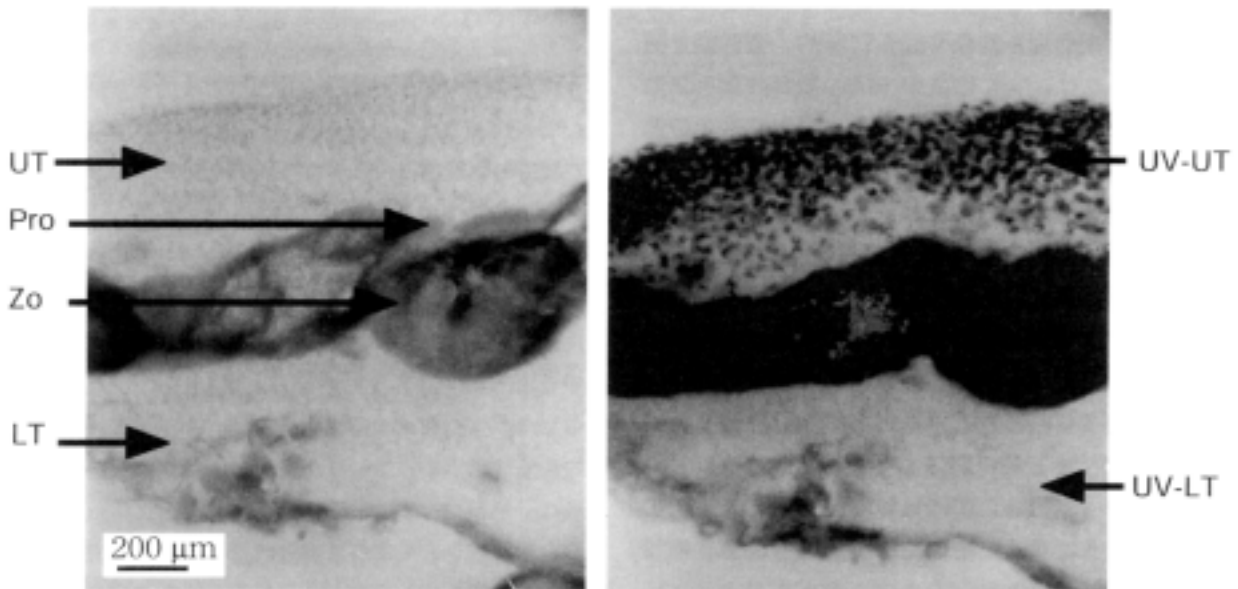


図5. *Diplosoma* sp. 切片の可視 (A) および紫外 (B) 顕微鏡写真。UT : 被囊上側、UL : 被囊下側、Pro : プロクロロン、Zo : 宿主個虫、UV-UT : 被囊上側の紫外線吸収ゾーン、UV-LT : 被囊下側の紫外線吸収ゾーン

果、これらの共生渦鞭毛層からは MAAs は検出されなかった。

MAAs が紫外線の遮蔽として働いているとすれば、最も日光に曝されやすい宿主の最表層に分布していれば効率が良いと考えられる。そこで、中程度の大きさのヒレナシシャコガイの外套膜(厚さ約 20mm)の表面から水平方向に 4 層にそいだ切片(厚さ 4-5mm)を作成し、各切片中の MAAs 濃度および共生渦鞭毛藻数を示すクロロフィル-a 濃度を調べた。結果を図 4 に示す。最表層でクロロフィル濃度が高いことはこの層に多くの共生渦鞭毛藻が存在していることを示す。予想通り MAAs 濃度は最表層で最も高く($2.3\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ dry weight)他の層の 4 倍以上の MAAs が検出された。このことからシャコガイは外套膜最表層に MAAs を蓄積しており、この MAAs の存在によりシャコガイ外套膜中の共生渦鞭毛藻は UV の照射の悪影響から守られていると考えられる。

群体ホヤ皮囊中の紫外線吸収物質の分布

Diplosoma sp.も透明な皮囊を持ち共生体としてプロクロロンを持つ群体性のホヤである。このホヤの垂直方向の切片を固定することなく、紫外光および可視光で観察した結果を図 5 に示す。紫外線を吸収するゾーンは、主に宿主の上側の皮囊表面とプロクロロン、宿主個虫および下側の皮囊の個虫の下側辺りで観察された。この中で宿主の上側皮囊の表面には特に強い吸収が観察された。この写真からはプロクロロンおよび宿主個虫の上方に特異的に紫外線吸収物質が蓄積され、サンスクリーンとして働いていることが見て取れる。さらに詳しくこの紫外線吸収ゾーンを観察した結果、ある特定の細胞にのみ強い紫外線吸収が観察された。この細胞は皮囊全体に分布しており、下側皮囊にも分布していたが、これらの細胞には紫外線の吸収は見られなかった。この一見同じように見える細胞に紫外線吸収物質を蓄積する細胞としない細胞があるのかはまだ分かっていない。

まとめ

以上、共生藻を持っているために、強い紫外線に曝される群体ホヤおよびシャコガイを用いて、多くの海洋生物から見い出されている紫外線吸収物質であるマイコスポリン様アミノ酸がサンスクリーンとして共生藻(そしておそらく宿主自身)を紫外線の作用から守っていること、そしてこれらの物質が、宿主の最外層にある特定の細胞に蓄積されていることを明らかとした。これらの細胞が紫外線吸収物質を蓄積する機構、また紫外線吸収物質の起源についてはさらに今後の検討が必要であると思われる。本研究開発は経済産業省産業技術環境局の産業科学技術プロジェクト「複合生物系等生物資源利用技術開発」の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構から委託を受けて実施したものである。

●引用文献

- Dionisio-Sese, M. L., M. Ishikura and T. Maruyama 1997. UV-absorbing substances in the tunic of a colonial ascidian protect its symbiont, *Prochloron* sp., from damage by UV-B radiation. *Mar. Biol.*, 128: 455-461.
- Dunlap, W. C. and J. M. Shick 1998. Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: A biochemical and environmental perspective. *J. Phycol.*, 34: 418-430.
- Ishikura, M., C. Kato and T. Maruyama 1997. UV-absorbing substances in zooxanthellate and azooxanthellate clams. *Mar. Biol.*, 128: 649-655.
- Klumpp, D. W., B. L. Bayne and A. J. S. Hawkins 1992. Nutrition of the giant clam *Tridacna gigas* (L.). I. Contribution of filter feeding and photosynthates to respiration and growth. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 155: 105-122.
- Ravan, J. A. 1991. Response of aquatic photosynthetic organisms to increased solar UVB. *J. Photochem Photobiol (Ser B)*, 9: 239-244.
- Smith, R. C. and S. Baker 1979. Penetration of UV-B and biologically effective dose-rates in natural waters. *Photochem. Photobiol.*, 29: 311-323.