

# 立方クラゲ *Copula sivickisi* の 摂餌の特殊化を示唆する 上部レンズ眼の分光感度

Jan Bielecki\*  
Anders Garm  
コペンハーゲン大学生物学部

Spectral sensitivity of the upper lens eye suggests feeding specialization  
in the cubozoan *Copula sivickisi*

J. Bielecki\* · A. Garm  
\* E-mail: jan@bielecki.dk

## ●はじめに

立方クラゲ類の障害物回避、摂餌行動、そして長距離遊泳などの複雑精緻な行動能力は、一組の特殊用途の眼に依存している (Buskey 2003; Garm et al. 2007b; Garm et al. 2011)。その視覚系はロパリア (rhopalia) と呼ばれる感覚器にあり、それは形態の異なる 4 タイプ計 24 個の眼によって構成されている (図 1)。そのうちの 2 タイプは、脊椎動物のカメラ眼に似た上部および下部レンズ眼で、クラゲのほぼ球形の視野を、前者が Snell's window (訳注 1) を通して水の外を、後者が水中を分割して知覚する。これらの眼では、視覚情報処理の大半が、網膜のレベルで複雑な情景から特別な情報を抽出することによって行われると考えられている。マングローブに生息する *Tripedalia cystophora* では、周囲の状況を捉えるときに整合フィルター (訳注 2) が重要で、それによって得られた情報に応じて行動を起こす。コントロールされる行動は 2 つのレンズ眼で異なり、下部レンズ眼は摂餌や障害物回避行動 (Buskey 1984; Garm et al. 2007b) に、上部レンズ眼は長距離遊泳 (Bielecki et al. 2013; Garm et al. 2011) に関わる。整合フィルターはすべての立方クラゲ種に存在すると考えられているが、マングローブ棲でない種における視覚情報の抽出・選別については *T. cystophora* ほどわかっていない。

立方クラゲ類の視覚的行動は、構造物 (例えば、マングローブでは植物の支持根や樹冠、光筋など) と背

景の光条件の明暗差によって調整される (Bielecki et al. 2013)。立方クラゲ類の視覚器官の形態には、種による相違があまりなく、また、一般に小型の眼には光感受性があまりないので、なおのこと *Copula sivickisi* (ヒメアンドンクラゲ) という小型で夜行性の動物の存在には驚かされる (Garm et al. 2012)。月光は明るい日光に比べて  $10^6 \sim 10^8$  倍も弱いにもかかわらず、*C. sivickisi* は完全に夜行性であり、日中は動かず基質に付着しているのである。

本研究によって私たちは、*C. sivickisi* の上部レンズ眼の分光感度を決定し、この種の眼が最大の感度を示すのは、484nm 付近の青色部のスペクトルであることを見出した。これは、510nm 付近の青緑色部のスペクトルに最大の感度をもつ *T. cystophora* に比べて短く、興味深いことにこの 2 つの姉妹種 (Bentlage et al. 2010) は、相同器官である上部レンズ眼において異なっていた。ここで示された *C. sivickisi* の分光感度は、餌を感知するのに間接的に生物発光を利用するという私たちの以前の仮説を支持するものであった (Garm et al. 2012)。

## ●材料と方法

### 生物:

立方クラゲ *Copula sivickisi* の成体 (図 1a) は、阿嘉漁港 (阿嘉島:  $26^{\circ}11'22.52''N$ ,  $127^{\circ}16'57.34''E$ ) において手網によって採集し、近くの阿嘉島臨海研究

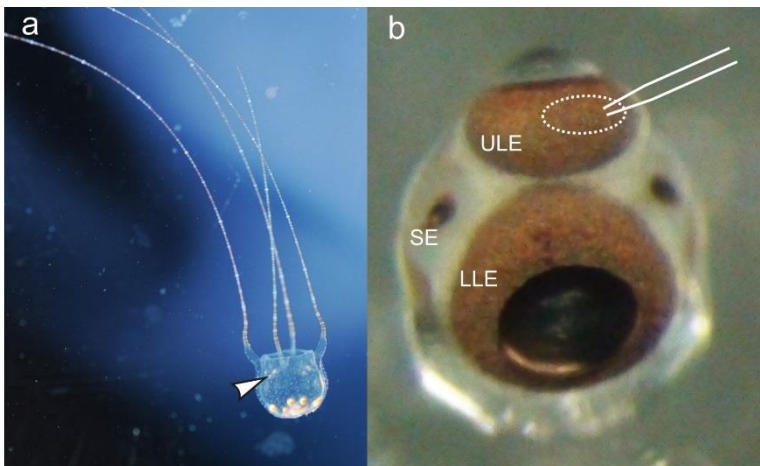


図 1 *Copula sivickisi* の視覚系

(a): 立方クラゲ類の視覚系は 4 つのロパリアにある 24 個の眼から成る。ロパリアは傘縁よりいくらか上方の rhopalial niche(ロパリア凹)にあり、ロパリア間に触手が生じる。(b): それぞれのロパリアは 4 つの形態型の 6 つの眼をもつ。形態型とは、上部レンズ眼(upper lens eye:ULE)、下部レンズ眼(lower lens eye:LLE)、スリット眼(slit eye:SE)、ピット眼(pit eye:隠れていて見えない)である。像をつくるレンズ眼は、カメラタイプの脊椎動物の眼と似ている。

所に運んで流水水槽(天然海水、34‰、28℃)で維持した。

#### 網膜電図(ERG):

材料生物の取り扱い、ロパリアの準備、記録の手順は、Garm et al.(2007a)に書かれている実験方法に厳密にしたがった。照明装置としてウルトラブライト LED (Luxeon V star LED, LXHL-LW6C, cool white, Lumileds Lighting, LLC, San Jose, CA, USA)を光学ベンチ(Linus, Leiden, Germany)に取り付けた。それに光ファイバーのライトガイドを取り付け、ライトガイドを、光域が上部レンズ眼全体をカバーするようにセットした。測定にあたっては、上部レンズ眼を 20ms 間白光で照射し、照射は明るさを  $10^6$  の幅 ( $1.1 \times 10^{-1} \sim 1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$ )で、 $10^{0.3}$  ないし  $10^{0.5}$  の間隔で変化させ、V-log I curve(訳注 3)の分析によって眼のダイナミックレンジ(訳注 4)を確かめた。次に、様々な波長(400~660nm)の光を 20ms 間照射して、分光感度を測定した。成体 5 個体(各 1 個)のロパリアについて、白色光による光強度と波長の両方について測定実験をおこ

なった。なお、眼の感受性が実験中ずっと変化しなかったことを 2 回目の V-log I 曲線分析によって確認した。全実験は切り出しから 1 時間以内に終わった。

#### 解析:

ERG 反応を Bielecki et al.(2013)の方法に従って記録した(図 2a)。実験プロトコルを通して、a 波と b 波(訳注 5)は、振幅においていくらか変動を示したが、a 波と b 波の差は一致したままだった(図 2a)。分光感度を V-log I 曲線によって分析したところ(図 2b)、Garm et al.(2007a)に書かれているようにオプシンが曲線に適合した(図 2c)。

#### ●結果

##### 記録信号:

ERG(正の b 波)は、段階的な光強度に対して段階的に反応した(図 2)。反応の振幅( $\lambda$ )は、強光阻害傾向の認められた最高光強度( $1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$ )を除いて、光強度の上昇に伴って増加した(図 2c)。

##### 反応速度:

*C. sivickisi* の上部レンズ眼の反応は、他の立方クラゲ種に比べて速かった(Garm et al. 2007a)(図 2b)。 $1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  の最高光強度において、ピーク応答までの時間は、 $48 \pm 5\text{ms}$ (mean  $\pm$  SEM, N=5)だった。反応の半値幅は、光強度  $2.2 \times 10^4 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  の時は  $24 \pm 5\text{ms}$ (N=5)だったが、 $1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  の時は  $29 \pm 8\text{ms}$ (N=5)で、やはり最高光強度で強光阻害が示された。

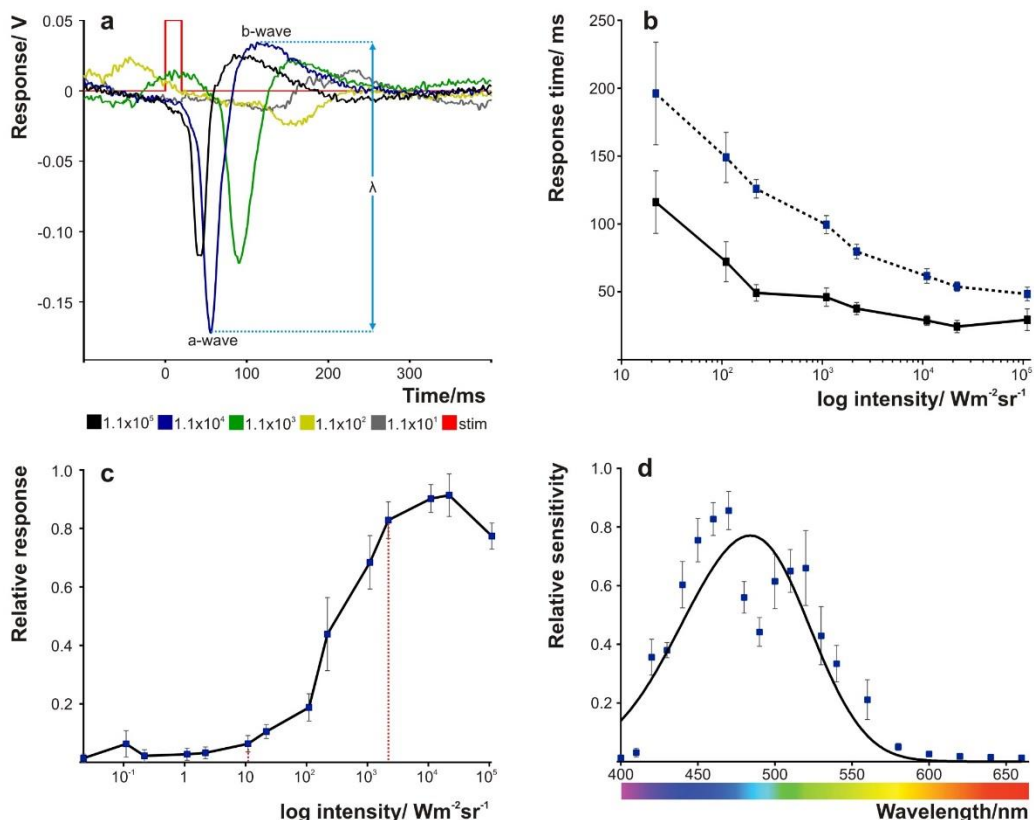


図2 上部レンズ眼のダイナミックレンジと感度

(a): a 波と b 波との振幅の差 ( $\lambda$ ) を異なる光強度での ERG 反応の分析に用いた。値は、面積あたりのワット毎ステラジアン ( $\text{Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$ ) で測定した。(b): 光受容器は、光刺激に対して比較的低速で反応し、半値幅(実線)が最小値を示した反応時間は 24ms だった。また、もっとも高い光強度 ( $1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$ ) で、わずかながら強光阻害の傾向が見られた。反応の最大値(破線)も同様に、最高光強度 ( $1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$ ) で最小値である 48ms を示した。(c): 上部レンズ眼のダイナミックレンジ(グラフ曲線の直線部で定義される)は光強度 10 からおよそ  $5 \times 10^3$  (破線)  $\text{Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  までの  $10^2 \sim 10^{2.5}$  の幅で、光受容器はおよそ  $1.1 \times 10^4 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  の光強度で飽和しており、 $1.1 \times 10^5 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  下では阻害が見られた。(d): 分光感度は、青色部で最大吸収を示し、484nm にピークをもつオプシンとともによく一致した。なお、反応の半値幅は約 100nm で、検体数は 5 個だった。

### ダイナミックレンジ:

*C. sivickisi* の上部レンズ眼のダイナミックレンジ(曲線の直線部分で示される)は、およそ  $1.1 \times 10^1 \sim 2.2 \times 10^3 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  で  $10^2 \sim 10^{2.5}$  だった(図 2c)。光強度  $2.2 \times 10^3 \sim 2.2 \times 10^4 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  では光受容体の飽和が観察され、 $2.2 \times 10^4 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$  より高い強度では ERG 反応により強光阻害が示唆された。

### 分光感度:

*C. sivickisi* の上部レンズ眼の最大感度はスペクトルの青色部にあり、感度曲線は 484nm にあるオプシンの  $\alpha$  バンド(主要な感受性のピーク)と一致した

( $R^2=0.79$ ,  $N=5$ )。予想外の反応の低下が 480nm と 490nm に見られたため、オプシンとの一致性を調べるためにこの 2 つの波長を外して第 2 の解析を行った。その結果、スペクトル感度は 485nm にピークをもつオプシンと一致した( $R^2=0.89$ )。反応の半値幅は約 100nm で、単一オプシン型(single opsin system)と一致した(Govardovskii et al. 2000)。

### ● 考察

*Copula sivickisi* の上部レンズ眼は、別の立方クラゲ種 *Carybdea marsupialis* (最大分光感度は 485nm にある)(Ekström et al. 2008)と同様にスペクトルの青

色部の 484nm に最大分光感度のあるオプシンを使って周囲の環境から光を吸収することがわかった(図 2c)。いっぽう、他の立方クラゲ類の *Carybdea rastonii*、*Chiropsalmus* sp.、*Tripedalia cystophora* は、青緑色 (500~510nm) に最大吸光度のあるオプシンをもっている(Garm et al. 2007a; Koyanagi et al. 2008)。外洋性動物の single-opsin 眼が青色を感知するのに特化したオプシンをもち、沿岸域に生息する動物の眼においてはより長い波長側に移行することは、一般的な特質である(植物プランクトンによって沿岸域の海水がより緑色的になることと関連すると思われる)。しかし、*C. sivickisi* と姉妹種 *Tripedalia cystophora* が、両者とも沿岸域に生息することは確実であるにもかかわらず、前者の高感度波長はより短い側に移行しており、先の特質は、立方クラゲ綱には当てはまらないことになる。しかし、直観的には、濁りのあるマングローブ棲の *T. cystophora* が沿岸動物に特有のスペクトルの青緑色部に最大感度のある視覚系をもち、さんご礁の透明度の高い水中に生息する *C. sivickisi* が外洋性のものにより近いことは理に適っているように思える。

*T. cystophora* において、上部レンズ眼はマングローブの樹冠の下の生活において長距離遊泳に関わっていることが示されている(Garm et al. 2011)。しかし、太陽に照らされたマングローブの樹冠が上部レンズ眼の視野に明暗差のある線を作り出すような場所と違い、*C. sivickisi* の活動する夜のさんご礁域では、遊泳のための視覚的な情報はあまりない。月は、*C. sivickisi* の生息地において有用な視覚的な合図を出せるかもしれないが、立方クラゲ類が月や星などの天体の合図によって能動的に遊泳するかどうかはわかっていない。けれども、*C. sivickisi* が、立方クラゲ類に特有の視覚系(図 1b)をもち続けているということは、本類の他種と同様に、本種においても視覚がもっとも重要な感覚器であることを示唆する。視覚が夜行性の *C. sivickisi*

にとって重要であるということは、暗闇では視覚は機能しづらいという直観に反しているように思えるが、以前に我々は、本種が渦鞭毛藻類ヤコウチュウ属の一種 *Noctiluca* sp. の生物発光の放射(放射波長 470nm; Nicol 1958)を感知するという特殊な視覚に誘導された摂餌戦略を明らかにしている(Garm et al. 2012)。

立方クラゲ類の視覚器官の形態は特殊化しており、冒頭に述べたように上部レンズ眼で Snell's window を通して水の外をのぞき、下部レンズ眼で水中を斜めに見るというように、2 タイプのレンズ眼の間で視野が分割され、前者が遊泳に、後者が摂餌に関わると考えられている(Bielecki et al. 2013; Buskey 1984; Garm et al. 2007b; Garm et al. 2011)。しかし、調べられたすべての立方クラゲ類において、上部と下部の両方のレンズ眼で同じオプシンが利用されており(Garm et al. 2007a; Koyanagi et al. 2008)、それで我々は、下部レンズ眼も上部レンズ眼と同じように利用されているのではなかと推測した。すなわち、*C. sivickisi* は敏捷な遊泳者で、ふつうは中層に生息していて(私見)、上方からの光を感知すると上がってくるのであり、このとき、本種は上部レンズ眼を利用して、下方から上方の餌を得ることを可能にしていると考えられるのである。

実際には、*C. sivickisi* のレンズ眼に届いているヤコウチュウ属の一種の発光の光強度は清浄な海水中で距離の 2 乗に比例して減衰しており、したがって、それが上部レンズ眼での反応を引き起こすのに十分なものかどうか結論を出すのが難しい。しかし、*C. sivickisi* の上部レンズ眼は、*T. cystophora* のものより光感度が高い。このことは、V-log I 曲線のダイナミックレンジが低値側へ  $10^{1.5}$  分移行していることから裏付けられる。また、より感度の高い眼であることは、反応速度からも支持される。すなわち、*T. cystophora* の上部レンズ眼の網膜電図による半値幅の最小値は  $39\text{ms}$  ( $3.2 \times 10^4 \text{ Wsr}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ) であった(Garm et al. 2007a) のに対して、

*C. sivickisi* では  $24\text{ms}(2.2 \times 10^4 \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2})$  であり(図 2b)、この近い光強度下での 2 つの値には、有意な差があった( $P=0.03$ , Student's *t*-test)。ほとんどの視覚系において、この相違は網膜電図測定を実施したときの眼の暗順応として説明でき、また、明順応した受容器は暗順応したものより速く作動するとされる。それならば、*T. cystophora* の眼は通常高い光強度条件下で働いており、言うまでもなく、そうした最適適応条件下でより速く反応するであろう。しかし、Garm et al. (2007a)は、立方クラゲ類の視覚系に固有のこととして、暗順応した眼と明順応したものとで反応時間(速さ)に差異がないことを見出している。

*C. sivickisi* が、より感度の高い上部レンズ眼によって月自体を感知できることは疑いないが、月光に照らされた物体の光強度( $3.6 \times 10^{-5} \text{ Wsr}^{-1}\text{m}^{-2}$ )は下部レンズ眼(上部レンズ眼と同じ感度があると仮定した場合でも)で捉えるには  $10^5 \sim 10^6$  倍も低すぎる。生物発光と *C. sivickisi* の反応の関連についての行動的研究はないが、本研究の結果は、ヤコウチュウ類と十分に近く、また、十分な個体数のヤコウチュウ類が発光すれば、本種は生物発光を感知できるという仮説(Garm et al. 2012)を支持する。餌生物からのより強い照射強度は、それらがいなくなる前に捕らえることができるくらいに近い空間にあることを示唆するため、クラゲの強度フィルターは摂餌行動を適切に誘起することができるだろう。

概日リズムについては、それに関係するどんな特殊な光受容構造もなく、動物の感光細胞によってコントロールされているのだろう。*T. cystophora* において、我々はロバリアの神経網に現れるオプシンを発見した(Bielecki et al. 2014)。このオプシンは明らかに眼球外のもので青色スペクトル(470nm)に最大吸光度をもつため、他の生物において概日同調に関係すると考えられている感光分子と矛盾せずに、Garm et al. (2012)によって観察された本種の概日リズムをコント

ロールできるだろう。*C. sivickisi* のトランスクリプトーム(訳注 6)はまだ解析されていないが、すべての立方クラゲ類の行動をコントロールするには 1 つ以上のオプシンが作用していそうであり、*C. sivickisi* においても *T. cystophora* と同様に眼球外のオプシンが存在していることもあり得る。

本研究は、*C. sivickisi* のレンズ眼によって効率のよい摂餌行動が誘起されることを支持するが、下部レンズ眼の分光感度の決定を含めた、そうした特殊化した機構について議論するには、さらなるデータが必要である。

#### ●謝辞

阿嘉島臨海研究所のスタッフである岩尾研二、上林利寛、谷口洋基の各氏に、その助力、仕事への考え方、プロ意識に対して心から感謝します。絶え間なくアレルゲンフリーのおいしいデザートを送っていただいた保坂美樹さんに JB から感謝の意を表します。

#### ●提供

本研究は、AG が VILLUM 財団より助成番号 VKR022166 の、JB が JEB Travelling Fellowship より資金提供を受けた。

#### ●引用文献

- Bentlage B, Cartwright P, Yanagihara AA, Lewis C, Richards GS, Collins AG (2010) Evolution of box jellyfish (Cnidaria: Cubozoa), a group of highly toxic invertebrates. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277: 493-501
- Bielecki J, Høeg JT, Garm A (2013) Fixational Eye Movements in the Earliest Stage of Metazoan Evolution. *PLoS ONE* 8(6): e66442. doi:10.1371/journal.pone.0066442

- 
- Bielecki J, Zaharoff AK, Leun NY, Garm A, Oakley TH (2014) Ocular and Extraocular Expression of Opsins in the Rhopalium of *Tripedalia cystophora* (Cnidaria: Cubozoa). PLoS ONE 9(6): e98870. doi:10.1371/journal.pone.0098870
- Buskey E (2003) Behavioral adaptations of the cubozoan medusa *Tripedalia cystophora* for feeding on copepod (*Dioithona oculata*) swarms. Marine Biology 142: 225-232
- Buskey EJ (1984) Swimming pattern as an indicator of the roles of copepod sensory systems in the recognition of food. Marine Biology 79: 165-175.
- Ekström P, Garm A, Pålsson J, Vihtelic TS, Nilsson DE (2008) Immunohistochemical evidence for multiple photosystems in box jellyfish. Cell and Tissue Research 333: 115-124
- Garm A, Bielecki J, Petie R, Nilsson DE (2012) Opposite patterns of diurnal activity in the box jellyfish *Tripedalia cystophora* and *Copula sivickisi*. Biological Bulletin 222: 35-45
- Garm A, Coates MM, Gad R, Seymour J, Nilsson DE (2007a) The lens eyes of the box jellyfish *Tripedalia cystophora* and *Chiropsalmus* sp. are slow and color-blind. Journal of Comparative Physiology A 193: 547-557
- Garm A, O'Connor M, Parkefelt L, Nilsson DE (2007b) Visually guided obstacle avoidance in the box jellyfish *Tripedalia cystophora* and *Chiropsella bronzie*. Journal of Experimental Biology 210: 3616-3623
- Garm A, Oskarsson M, Nilsson DE (2011) Box jellyfish use terrestrial visual cues for navigation. Current Biology 21: 798-803
- Govardovskii VI, Fyhrquist N, Reuter T, Kuzmin DG, Donner K (2000) In search of the visual pigment template. Visual Neuroscience 17: 509-528
- Koyanagi M, Takano K, Tsukamoto H, Ohtsu K, Tokunaga F, Terakita A (2008) Jellyfish vision starts with cAMP signaling mediated by opsin-G(s) cascade. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105: 15576-15580
- Nicol JAC (1958) Observations on luminescence in *Noctiluca*. Association of the United Kingdom Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 37: 535-541
- 訳注 1: スネルの窓。水中から空気中を見上げたときに、空気と水の界面の屈折により、空気中の半球状の視野が円形に圧縮されて丸く見える現象。
- 訳注 2: 雑信号をカットし、必要な信号を最大にするフィルター。
- 訳注 3: 光強度に対する眼の反応を示すもので、光強度(I)に対して反応した電圧(V)を網膜電図(ERG)により測定してプロットした曲線。なお、このとき光強度の幅が広いので対数で表す。
- 訳注 4: 信号の最小値と最大値の比率。
- 訳注 5: 網膜電図(ERG)とは、光刺激によって誘発される網膜の電位変化を記録したものであり、その応答では光刺激の直後に陰性波が、続いて陽性波が観察され、前者を a 波、後者を b 波と呼ぶ。
- 訳注 6: 特定の状況下において細胞中に存在する全ての mRNA ないしは一次転写産物。
- (訳責 岩尾研二 E-mail: iwao@amsl.or.jp)