

カラスザメ属(*Etmopterus*)の生物発光メカニズムの解析

○水野 雅玖¹・矢野 大地¹・José Paitio¹・遠藤広光²・大場裕一¹

(¹中部大学 応用生物学部 環境生物科学科 ²高知大学 理工学部 生物科学科)

【背景】生物発光は真菌から脊椎動物に至るまでの、非常に多くの分類群の生物にわたって見られる形質である。そのメカニズムが分類系統によって大きく異なっていることから、生物発光はそれぞれの分類群において独立して獲得されたと考えられている。脊椎動物で唯一発光種を含む魚類では、現在 13 目 44 科 224 属 1540 種の発光種が確認されており¹⁾、そのほとんどが硬骨魚類に分類される。軟骨魚類においては、ツノザメ目のカラスザメ科、ヨロイザメ科、オンデンザメ科の 3 科に計 63 種の発光種が確認されている¹⁾。系統解析と分岐年代推定の結果から、軟骨魚類における生物発光形質は全て共通起源であることが示唆されているが²⁾、その発光メカニズムは今日まで明らかになっていなかった。

【目的】我々の研究グループは、未解明の生物発光メカニズムを解明する研究対象の一つとして、カラスザメ属 *Etmopterus* に着目した。カラスザメ属は、発光性深海ザメの中でも、特に発光する部位や役割が多様化しており³⁾、ツノザメ目全体で比較しても種多様性が著しい(図 1)。加えて、

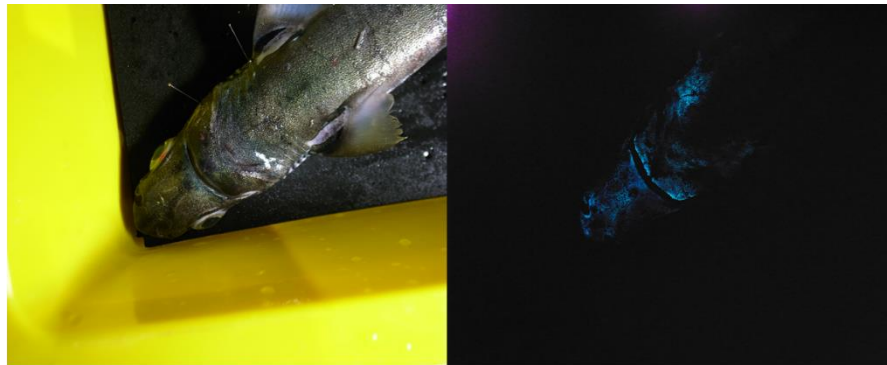


図1. フジクジラ *Etmopterus lucifer*の腹側発光器の発光
主に腹側表皮に微細な発光器が無数に存在しており、そこから青色の光を発する。

海洋中深層における主要な捕食者としてのニッチも占めており⁴⁾、その適応戦略に本属の生物発光形質が深く関わっていることが予想される。生物発光形質と、カラスザメ属の多様化と適応戦略の関係性の解明のため、本属の生物発光メカニズムの解明を目的とした研究を行った。

【材料と方法】本研究では、静岡県駿河湾から採取されたカラスザメ属魚類の中でも、特に個体数が多く採取されたヒレタカフジクジラ *E. molleri* を用いて、そのルシフェリン分子とルシフェラーゼタンパク質の解析を行った。冷凍庫体から発光器を含む腹側の組織を採取し、メタノール中で破砕することによってルシフェリンを、緩衝液中で破砕することによってルシフェラーゼをそれぞれ抽出した。ルシフェリン粗抽出液は ODS カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーによって分画し、各フラクションに対しルシフェラーゼ粗抽出液を用いて発光活性を測定した。同時に、ルシフェラーゼ粗抽出液をゲル濾過カラムによって分画し、各フラクションに対しルシフェリン粗抽出液を用いて発光活性を測定した。

【結果と考察】ルシフェリン粗抽出液の HPLC 分画の結果、タンパク質粗抽出液に対する活性はシングルピークであり、活性画分の質量分析を行ったところ、シグナルパターンがセレンテラジン標品と完全に一致した。また、セレンテラジン標品を HPLC 分析したところ、ルシフェリン粗抽出液の活性画分と同一の保持時間に溶出することが確認された。一方、ルシフェラーゼ粗抽

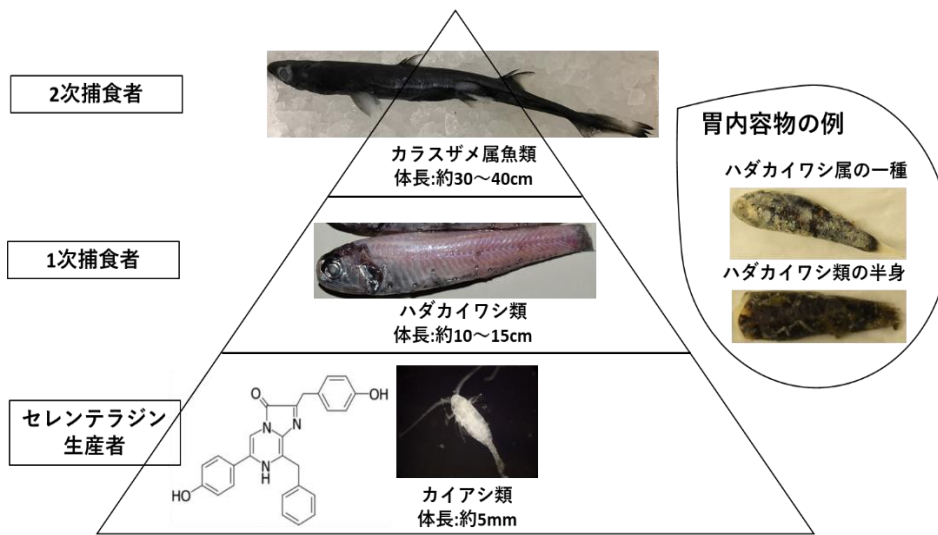


図2. 食物連鎖を介したセレンテラジン獲得経路の仮説
カラスザメ属魚類は、同じくセレンテラジンを用いて発光するハダカイワシ類などの生物からもセレンテラジンを得ていると考えられる。

の基質はセレンテラジンであることを示唆する⁵⁾。

本研究結果により、カラスザメ属魚類は既知のセレンテラジン系発光生物と同じく、摂食している生物からセレンテラジンを獲得して生物発光に利用している可能性が示唆された。本研究で使用した個体の胃内容物としてハダカイワシなどの発光魚が発見されていることも、その仮説を支持している。本研究は、セレンテラジンが生産者であるカイアシ類から1次捕食者であるハダカイワシ類のみならず、それらを捕食する2次捕食者であるカラスザメ属にも利用されていることを示唆する結果をもたらした(図2)。

【今後の研究展開】今後の研究では、カラスザメ属の生物発光形質がどのように獲得され、進化してきたのかを探る。そのために、ルシフェラーゼをコードする遺伝子を決定し、配列の相同性の比較から祖先遺伝子を同定し、ルシフェラーゼの分子進化プロセスの解明を目指す。更に、セレンテラジンの保存メカニズムを解明するため、セレンテラジン貯蔵体や結合タンパク質などのルシフェリン安定化分子の探索を行う。

参考文献

(1) Oba et al. Living Light List, Fishes. ver.1.28.

https://www3.chubu.ac.jp/faculty/oba_yuichi/living_light_list/

(2) Straube et al. Molecular phylogeny of Squaliformes and first occurrence of bioluminescence in sharks *BMC Evolutionary Biology* (2015) 15:162

(3) Duchatelet et al. Etmopteridae bioluminescence: dorsal pattern specificity and aposematic use *Zoological Letters* (2019) 5:9

(4) Neiva et al. Feeding habits of the velvet belly lanternshark *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae) off the Algarve, southern Portugal *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* (2006) 835:841

(5) Mizuno et al. *Etmopterus* lantern sharks use coelenterazine as the substrate for their luciferin-luciferase bioluminescence system *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2021) 139:145

出液の分画では、ルシフェリン粗抽出液と合成品セレンテラジンに対する活性画分は同一であった。組織ごとの活性の比較を行ったところ、背側組織、筋肉、眼球と比較して腹側組織に高い活性が認められた。この結果は、ヒレタカフジクジラの発光メカニズムはルシフェリン-ルシフェラーゼ反応であり、そ