

## サンゴの共生・白化に関連する褐虫藻の運動調節の研究

朝賀 伸一 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 稲葉 一男 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景・目的】

古生代から続くサンゴ-褐虫藻間の相利共生関係は、豊かな生物多様性を生み出すサンゴ礁生態系を支えている。褐虫藻は渦鞭毛藻類に属し、横鞭毛と縦鞭毛という2本の鞭毛を持つが、遊泳において横鞭毛は推進力、縦鞭毛は舵取りの役割を果たしていると考えられている。また、褐虫藻は鞭毛がある遊泳細胞と鞭毛のない球形細胞という2つの形態をとり、共生前後で変化する。

サンゴの白化は、温暖化や強光により光合成系が破壊された褐虫藻がサンゴから排出されることが原因で起こる。白化によりサンゴの増殖が抑えられ、サンゴ礁が縮小する結果、サンゴ礁域に住む多様な海洋生物種の生息地が奪われることになる。白化時のサンゴが緑色蛍光を発するという報告や、緑色蛍光に褐虫藻が誘引されるという報告<sup>1</sup>から、褐虫藻の走光性はサンゴの共生や白化に密接に関わっていると考えられる。しかし、その運動調節機構の詳細は明らかになっていない。

本研究では、走光性を示す褐虫藻の鞭毛波形の変化を解析し、褐虫藻の運動調節機構を明らかにすることを目的とした。

## 【材料】

## ・褐虫藻

*Breviolum minutum*、*Breviolum psygmophilum*、*Cladocypium goreau*の

3種の株をIMK培地中、23°Cで維持した。冷白色蛍光灯を用い、14時間明期:10時間暗期(8:00点灯,22:00消灯)で照明した。

## 【実験方法】

## 褐虫藻の24時間観察と解析

培養フラスコ内の褐虫藻を赤色LED光照射の下、4倍の対物レンズを用いて位相差顕微鏡で24時間観察し、15分毎に30秒の動画をカメラ(iDS,UI3240CP)により撮影した。撮影した動画を画像解析ソフトImageJで解析し、運動率・運動軌跡を求めた。

## 鞭毛運動の観察と解析

褐虫藻 *B. minutum* を赤色LED光照射の下、10倍の対物レンズを用いて位相差顕微鏡および微分干渉顕微鏡で観察し、ハイスピードカメラ(DIRECT,HAS-U2)により1秒間に100フレーム撮影した。観察はBSAコートしたスライドガラスチャンバーで行った。

## 青色光への走光性の観察と解析

褐虫藻 *B. minutum* を赤色LED光照射の下、4倍の対物レンズを用いて位相差顕微鏡で9:00、13:00、17:00に観察し、ハイスピードカメラ(HAS-U2)により1秒間に100フレーム撮影した。青色光は5mm青色LED(465-475nm)を50ml角フラスコの横から照射した。

## 【結果】

褐虫藻の運動性を24時間観察した結果、*B. minutum* では、明期開始から数時間後に遊泳細胞が観察されはじめ、13:00から14:00の間で最大運動率が計測された。また、14:00以降は暗期に向けて運動率が下がった。*B. psygmophilum* の運動性は低かったが、*B. minutum* と同様に13:00から14:00の間で運動率が最も高

く、暗期に向けて運動率は下がった。*C. goreau* では、遊泳細胞が観察されなかった。

運動軌跡を解析した結果、運動率が低い時間帯では直進・らせん運動を示す褐虫藻が多かった。また、運動率が高くなるにつれて、回転運動を示す褐虫藻が増加した。以上の結果から、褐虫藻の運動率は種によって異なること、運動軌跡は光周期の時間帯によって変化することがわかった。

次に、直進・らせん運動と回転運動を起こす機構を明らかにするために、*B. minutum* を用いて鞭毛運動の観察を行った。本研究では、褐虫藻が持つ2本の鞭毛のうち、横鞭毛を明確に記録することができなかったため、縦鞭毛の波形解析を行った。褐虫藻が回転運動から直進運動に転換する際の縦鞭毛の波形を観察・解析した結果、回転運動では非対称波を描き、直進運動では対称波を描くことがわかった。さらに、機械刺激を受容した直後、鞭毛の打頻度が変化する様子を記録することができた。これらの鞭毛波形の変化は、運動軌跡の調節に深く関係していると考えられる。

さらに、*B. minutum* を用いて青色光に対する走光性を解析したところ、直進・らせん運動を示していた褐虫藻が、明期開始後の時間にかかわらず、負の走光性を示すことがわかった。

## 【考察・今後の展望】

遊泳細胞の増加に伴い、回転運動を示す細胞が増えたことは、褐虫藻の運動変化が光周期の時間帯だけでなく、細胞の運動率に依存する可能性を示す。本研究では、回転運動が培養容器の底で観察された。自然界においても、遊泳性の褐虫藻は海中よりもサンゴが生息している海底に多く存在するといわれている。サンゴの共生効率は、褐虫藻の密度が高いほど大きくなることから、サンゴの緑色蛍光<sup>2</sup>により誘引された褐虫藻が、回転運動によってサンゴ表面に留まることで、共生効率を高めている可能性がある。

本研究では、光照射開始4時間後から遊泳細胞が観察された。光照射開始前の細胞分裂のピーク直後に遊泳細胞が現れるという報告や<sup>3</sup>、12時間/12時間の明暗周期のうち、褐虫藻の走光性活性が明期開始4時間後に最も高いという報告<sup>4</sup>がある。したがって、褐虫藻の鞭毛形成、運動性の獲得、および運動調節は、細胞分裂や光受容の機構と深く関わっている可能性が示唆される。

本研究から、運動軌跡の変化に伴い縦鞭毛の対称性が変化することがわかった。褐虫藻の横鞭毛には、Ca<sup>2+</sup>により鞭毛の収縮や運動性を変化させるセントリンというタンパク質が存在する。運動調節の機構を明らかにするためには、縦鞭毛Ca<sup>2+</sup>調節を解析するとともに、横鞭毛が褐虫藻の運動調節にどのように関わるのかを明らかにする必要がある。さらに本研究では、褐虫藻が青色光への走光性を示すことがわかった。褐虫藻の鞭毛運動を制御する因子が、周囲の環境変化に応答する可能性が考えられる。褐虫藻の光受容機構を明らかにすると同時に、今後はサンゴ由来の物質に対する走化性の有無についても検証したい。

## 【参考文献】

1. Aihara *et al*, PNAS, 116: 2118-2123 (2019).
2. Yamashita *et al*, Galaxea, JCRS, 18: 13-19 (2016).