

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月24日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22658066

研究課題名（和文） 深海生物の赤外線感知機能に関する研究

研究課題名（英文） Studies on sensory function of deep sea animals

研究代表者

豊原 治彦 (TOYOHARA HARUHIKO)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：90183079

研究成果の概要（和文）：深海に生息する生物の感覚機能を明らかにする目的で、ユノハナガニの行動学的観察を行い、熱水噴出孔に指向性を示すことを確認した。同じ節足動物であるイセエビを用いて G タンパク共役型化学シグナル受容体遺伝子を得ることができた。また、噴出孔付近に生息するイトエラゴカイに化学物質に対するセンサーが存在することを行動学実験で明らかにし、薬理学的実験からそれが TRP チャネルであることを示した。

研究成果の概要（英文）：To validate the sensory function of deep sea animals, we performed the behavior observation of deep sea crab *Gandalfus yunohana* in a tank and found this species showed the directivity to heat. We successfully obtained a gene encoding a G protein-coupled receptor from *Gandalfus yunohana* and found that a possible candidate of a homologous gene exists in *Gandalfus yunohan*. We also found the occurrence of TRP channels in *Paralvinella* by behavior observation. The present study reveals the occurrence of various chemical sensors in deep sea animals and suggests these sensors possibly function for the adaptation to deep sea environment.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	0	1,900,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	390,000	3,590,000

研究分野：水産学

科研費の分科・細目：水産化学

キーワード：化学センサー、感覚機能、深海、ユノハナガニ、Gタンパク質、TRP チャネル

## 1. 研究開始当初の背景

深海の熱水噴出孔付近には独特の生態系が存在し、数多くの生物が生息することが報告されているが、これらの生物は飼育が極めて困難なため、これまで実験行動学的な見地からの研究はまったく手つかずのままである（例えば、藤倉克則ら、「潜水調査船が観た深海生物—深海生物研究の現在」、東海大学出版社、2008）。一方申請者は、5度の深

海生物調査（例えば Inoue, Toyohara et al., *FEBS Lett.*, 582,1542-1546 (2008)）を通じて、ユノハナガニは眼に相当する器官を持たないにもかかわらず、暗黒の深海底において正面を通過するエビを瞬時に鉗脚（ハサミ脚）で捕獲できることを観察した。この行動は、ユノハナガニが何らかの視覚に相当する物体感知機能を有する可能性を強く示唆するものであった。ユノハナガニは熱水噴出孔

の約半径 5 m 以内に生息することを考慮すると、ユノハナガニは熱水噴出孔が発する微弱な赤外線を何らかの方法で感知していると予想され、申請者は「ユノハナガニは赤外線感知器官を有する」と着想するに至った（図 1）



図 1. ユノハナガニの正面像。丸で囲んだあたりに、赤外線感知器官があると推測される。

## 2. 研究の目的

本研究は深海生物の赤外線感知機構について、飼育実験が可能なユノハナガニを用いて、実験行動学と分子生物学の両面からアプローチを試みるものである。赤外線は、(赤外)熱源と(赤外)色源の両面の性質を持つ。これまでの知見から、生物は、熱は熱感受性イオンチャネル (TRP チャンネル)、色は色覚受容体 (オプシン) により感知していることが知られている。一方、ユノハナガニは外見的には眼に当たる器官が喪失しているが、深海探査艇を用いた現場行動の観察から「物体を見る能力がある」と推測される。そこで本研究において、申請者はユノハナガニは熱水噴出孔に由来する赤外線を感じて物体を見ているという仮説を立て、赤外線を熱と色のいずれとして感知しているのかを、申請者らの有する分子生物学的手法と新江ノ島水族館との共同研究により可能となる実験行動学的手法とを用いて明らかにすることを目的とする。本年度は、① 赤外線感知機能の特定、② 赤外線源の強度変化による行動変化の解析、③ 感知器官の探索、④ オプシン・TRP チャンネル遺伝子の単離を研究目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究の研究計画は、「実験行動学からのアプローチ」と「分子生物学からのアプローチ」に大別される。実験方法として、前者では、ユノハナガニの赤外線感知が熱認識によるのか、あるいは色認識によるのかを、飼育環境下において人工的な熱源と色源を用いて調べる。この実験により、ユノハナガニの最も感受性の高い温度帯と色 (波長) を特定し、実験行動学実験の結果と照合することで、赤外線感知が、熱と色のいずれに多く依存し

ているのかを知る。感知には G タンパク質共役受容体 (7 回膜貫通タンパク質) と TRP チャンネル (6 回膜貫通タンパク質) の関与が予想された (図 1、図 2)

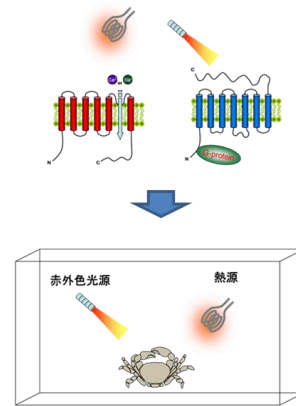


図 1. 予想された受容体



図 2. 熱源に集まるユノハナガニ (新江ノ島水族館にて撮影)

## 4. 研究成果

本研究では、化学シグナル受容体遺伝子はすべてロドプシンと類似した 7 回膜貫通型 G タンパク質共役受容体をコードしており、膜貫通領域に高度に保存されたアミノ酸配列を有することが知られていることに注目し、特に化学シグナルが生理・生態に重要な機能を果たしていると予想される海洋無脊椎動物について、PCR 法を用いた受容体遺伝子のクローニングとその化学シグナル応答性を

明らかにすることを目的とする。実験動物としては、これまでの形態学的な研究から化学受容体の分布器官が特定されているイセエビに注目して研究を進めてきた。

化学シグナル受容体については、イセエビの触角から mRNA を調製し、得られた cDNA を用いて PCR-RACE 法で進めた結果、770 bp のバンドを得ることができた。昆虫のホモログから予想されるサイズは 540 bp であり、今回得られたものは若干、サイズが大きいが、塩基配列解析の結果、化学受容体をコードする遺伝子である可能性が推測された。一方、昆虫の化学受容体の類推から、甲殻類の嗅覚受容体の情報伝達系は IP3 を介したものと予想された。IP3 を介する情報伝達系では、G タンパク質としては  $G\alpha q$  が用いられていると考えられた。そこで、PCR により当該遺伝子のクローニングを試みた結果、イセエビの  $G\alpha q$  をコードすると考えられる遺伝子のクローニングに成功した。一方、イセエビにおいて化学受容体が発現していると予想される第一触覚ならびに第二触覚の微細構造の観察を行い、受容体発現が予想される構造を明らかにすることに成功した。

一方この過程で、深海性の環形動物であるいとエラゴカイが TRP チャンネルを介した種々のケミカルセンサーを有することを見出した。そこで過酸化水素、酢酸をはじめとする種々の化学物質に対する応答を行動学的に解析した結果、図 3-5 に示す結果を得た（縦軸は忌避行動の際の移動距離）。これらの結果から、深海生物が RTP チャンネルを用いて、特異な環境応答機構を発達させていることが推察された。

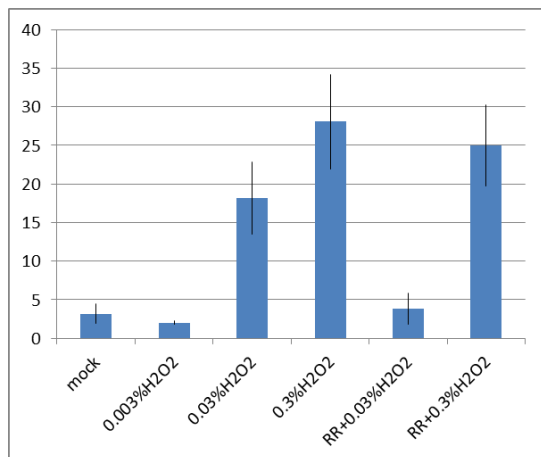


図 3. 過酸化水素に対する応答性

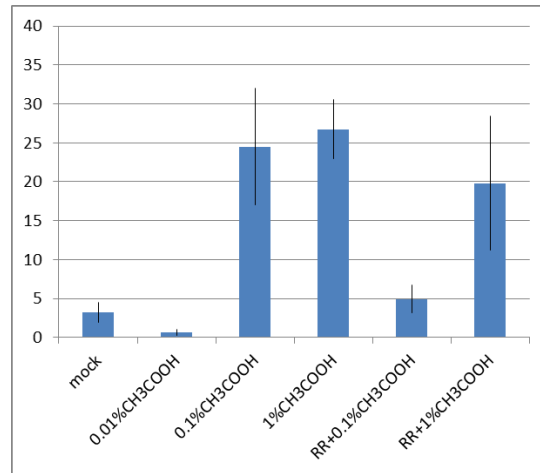


図 4. 酢酸に対する応答性

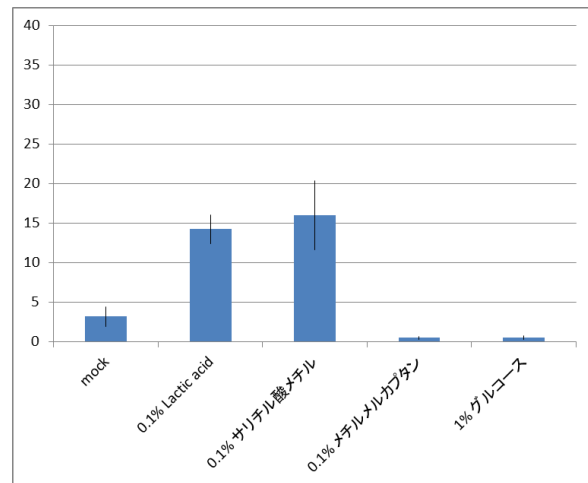


図 5. 種々の化学物質に対する応答性

興味深いことに、過酸化水素水や酢酸などの酸に対し敏感に反応したことから、深海生物は熱水噴出孔から溶出されるおそらく硫酸に由来する酸成分を敏感に感知していることが推測された。このことから、多くの深海生物が深海底における酸成分、おそらくプロトンの流れを敏感に感知し、噴出孔の位置や近くの生物の動きを感じ取っていることが考えられた。

なお、参考のために、今回新たに開発した深海生物の化学物質に対する応答性を測定する装置を用いて、応答性を測定している様子を図 6 に示す。



図 6. 化学物質に対する応答性を測定している様子

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 1 件)

熱水適応種における環境センシング  
—網羅的 RNA seq 解析と生体センサ素子の提供—, 滋野修一 (海洋研究開発機構), 小倉淳 (徳島大学), 森司 (日本大学), 豊原治彦, 前川真吾 (京都大学), 細井公富 (福井県立大学), 吉田真明 (遺伝研), 植松勝之, 多米晃裕 (マリン・ワーク・ジャパン), 土田真二, 平岡礼鳥, 鶴若祐介, 吉田尊雄, 藤倉克則 (海洋研究開発機構)、ブルーアース 2013 シンポジウム、2013 年 3 月 15 日、東京海洋大学

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.mbf.marine.kais.kyoto-u.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

豊原 治彦 (TOYOHARA HARUHIKO)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：90183079

### (2) 研究分担者

岸田 拓士 (KISHIDA TAKUSHI)

京都大学・理学研究科・研究員

研究者番号：40527892

細井 公富 (HOSOI MASATOMI)

福井県立大学・海洋生物資源学部・助教

研究者番号：70410967