

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：63904

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14814

研究課題名(和文) サンゴの蛍光タンパク質は褐虫藻の誘引に働く

研究課題名(英文) Green fluorescence from cnidarian hosts attracts symbiotic algae

研究代表者

相原 悠介 (Aihara, Yusuke)

基礎生物学研究所・環境光生物学研究部門・NIBBリサーチフェロー

研究者番号：40636891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：造礁サンゴは緑色蛍光タンパク質(GFP)とその類縁の蛍光タンパク質を大量に産生し鮮やかに呈色する。しかしながら蛍光タンパク質がサンゴにとってどのような役割を持つかはいまだに明らかでない。本研究では「サンゴの蛍光タンパク質が共生相手の褐虫藻を誘引する」ことを検証した。褐虫藻の正と負の走光性は、それぞれ緑色光と青色光に対して最大となった。さらに、緑色蛍光を発するサンゴ及び人工物が褐虫藻を誘引することを確認した。実際にサンゴ礁にて、蛍光塗料を塗布したトラップに自然海水中の褐虫藻が誘引される傾向を見出した。以上により、サンゴ礁光環境において、褐虫藻がサンゴの蛍光タンパク質に誘引されうることを実証した。

研究成果の概要(英文)：Reef-building corals possess the endogenous green fluorescence proteins (GFPs) that emit green fluorescence on exposure to blue light. Although GFPs found in cnidarians have been proposed to function as photoprotective agents, this does not explain why deep-sea cnidarians living in continuous dark environments still possess GFPs. Here, we show that corals attract free living Symbiodinium by their endogenous GFP-associated fluorescence. Symbiodinium showed positive and negative phototaxis mostly toward strong blue and weak green light, respectively. Attraction of Symbiodinium by green fluorescence was observed using both a live coral fragment and an artificial green-fluorescence dye but only under blue light i.e. the wavelength that induces green fluorescence. We also show that traps painted with a green fluorescence dye captured Symbiodinium in the field. This study illustrates that GFPs in corals function as ecological signal to invite potential symbionts in underwater blue environments.

研究分野：光生理学

キーワード：サンゴ 褐虫藻 GFP 走光性 共生

1. 研究開始当初の背景

サンゴ礁の海域では、緑や黄、赤など、鮮やかな体色のサンゴを見ることができる。この体色は、サンゴが緑色蛍光タンパク質 (GFP) とその類縁の蛍光タンパク質を大量に産生していることに由来する。しかしながら、蛍光タンパク質はサンゴにとってどのような役割を持つのかについては、いまだに明らかでない。唯一、「サンゴ体内に共生する褐虫藻の光防御に寄与する」とする説(日除け説)が提唱されているが、強光が届かないほどの深場(50m)に棲むサンゴであっても強い蛍光を発するという事実を説明できない。

2. 研究の目的

本研究では「サンゴの蛍光タンパク質は褐虫藻を誘引する働きがあるのではないかと仮説を立て、これを検証した。さらには、実際のサンゴ礁海域において、サンゴの蛍光による褐虫藻誘引の実態を捉えることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 大型スペクトログラフを用いて、褐虫藻の走光性の作用スペクトルを解析した。具体的には、異なる波長(360-700 nm)および強度($0.01 - 60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{秒}^{-1}$)の単色光に対し、褐虫藻が誘引(正の走光性)・忌避(負の走光性)いずれの行動を取るかについて定量的に解析した。そのデータから、褐虫藻の誘引が起こる光環境・蛍光条件を予測した。

(2) サンゴ群体(種名: *Echinophyllia aspera*)や人工蛍光物質を用いて、蛍光源に褐虫藻が誘引される条件を検証した。具体的には、サンゴ・人工蛍光源を設置した容器に

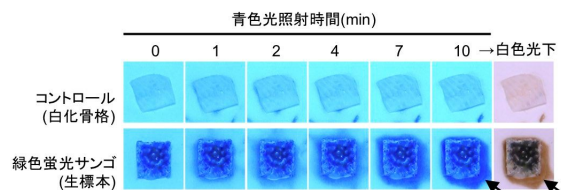
褐虫藻培養液を投入し、上方から青/緑/赤色の単色光を照射しながらビデオ撮影で経過を観察した。

(3) 沖縄県瀬底島のサンゴ礁にて海水から褐虫藻のゲノムDNAを検出し、蛍光による褐虫藻誘引の実態を捉えることを試みた。

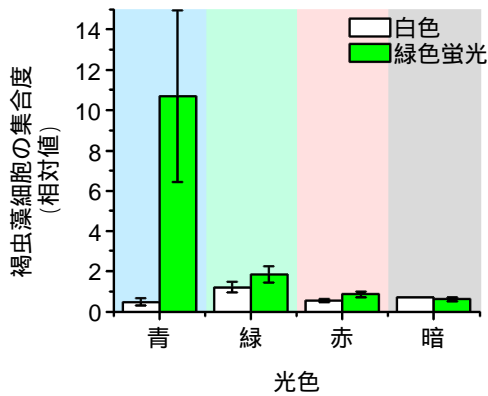
4. 研究成果

(1) 大型スペクトログラフを用いて、褐虫藻の走光性の作用スペクトルを測定した結果、褐虫藻の正と負の走光性は、それぞれ緑色光(500-540 nm)と青色光(380-480 nm)に対して最大となった。このことから、青色が優占する海洋光環境で、サンゴの緑色蛍光に誘引されることが推測された。

(2) この作用スペクトルデータからの予測をもとに、褐虫藻が蛍光に誘引される条件を詳細に検討した。その結果、強い緑色蛍光を発するサンゴに、青色光環境下で褐虫藻が誘引される現象を確認し(図1)、その程度を定量化することに成功した(図2)。特筆すべきことにこの現象は、暗所や緑色/赤色光など、GFPを励起しない環境では起こらなかった。したがって、褐虫藻を誘引する要因は、サンゴが発する「化学物質」ではなく「蛍光」であると考えられた。

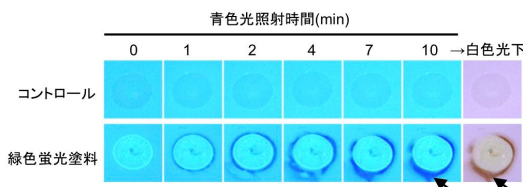


(図1: 8 mm 四方のサンゴ骨格片に褐虫藻が誘引される様子の時間変化。矢印は褐虫藻の細胞群を示す。)



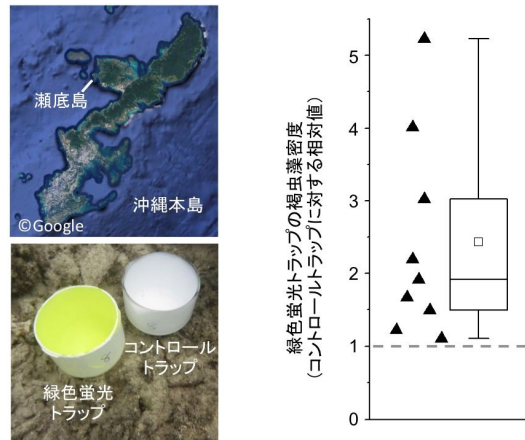
(図2: 図1の綠色蛍光サンゴの褐虫藻誘引効果の定量化。綠色蛍光を励起する青色光の環境でのみ、誘引効果が観察された。)

蛍光の褐虫藻誘引効果をさらに検証するため、人工の綠色蛍光塗料を検討した。使用した塗料の蛍光スペクトル及び蛍光強度は、サンゴ(*Echinophyllia aspera*)のそれとほとんど同一であることを確認している。誘引実験の結果、蛍光塗料であっても褐虫藻を誘引する効果があることを確認した(図3)。また、幅広い濃度の蛍光塗料で誘引効果が認められた。以上の結果より、サンゴの発する蛍光が褐虫藻を誘引することが示された。



(図3: 径8 mmの人工綠色蛍光源に褐虫藻が誘引される様子の時間変化。矢印は褐虫藻の細胞群を示す。)

(3) 最後に、サンゴ礁海域において、自然界水中の褐虫藻が蛍光に誘引されるかどうかを検討した。上述の綠色蛍光塗料を塗布したトラップを沖縄県瀬底島の海域に沈め、サンプリングした海水から褐虫藻特異的なゲノムDNAを定量的PCRにより定量した。その結果、コントロールの白色トラップに比べて、蛍光トラップに褐虫藻が誘引される傾向を見出した(図4)。



(図4: 沖縄県瀬底島のサンゴ礁における綠色蛍光トラップの褐虫藻誘引効果。)

以上(1)(2)(3)の結果により、青色光が優占的なサンゴ礁光環境において、サンゴの綠色蛍光が褐虫藻を誘引することが示された。

褐虫藻の走光性がどのような光受容体によって制御されているかは不明である。他の藻類では、走光性に関わる光受容体はオプシンとPAC (Photoactivated adenylate cyclase)が知られる。そこで褐虫藻の一系統であるMf1.05bのゲノム情報を解析した結果、PACは見出されず、オプシン遺伝子が8つ見出された。したがって、褐虫藻の走光性はオプシンによって制御されていると想定される。今後はこれら8つのオプシン遺伝子をクローニングして吸収・反応波長を解析することで、綠色蛍光への走性に関わるオプシンの正体に迫りたい。

サンゴ礁海域における褐虫藻の生息密度は非常に低い。そのため、蛍光タンパク質による褐虫藻の誘引は、サンゴが褐虫藻と共生するために極めて重要なメカニズムと考えられる。本発見により、従来の「日除け説」では矛盾の生じる現象を以下のように説明できる。

- ・深場のサンゴも浅場のサンゴも、褐虫藻を効率良く誘引するために蛍光タンパク質を発現するものと考えられる。

・サンゴが蛍光タンパク質を強く誘導する場面は共生成立前の稚サンゴやサンゴ枝の成長点、サンゴ白化現象の後などである。これらはいずれも新たな褐虫藻を必要とするタイミングであり、蛍光タンパク質で効率良く褐虫藻を取り込むという意義が考えられる。

・サンゴ種によって様々な蛍光色のパターンがある理由も、異なる蛍光色を選好する褐虫藻種をそれぞれ選択して誘引するためであるかもしれない。

以上の例のように、蛍光タンパク質による褐虫藻誘引メカニズムはサンゴの生存戦略を理解する基盤となる。

以上の成果を、現在、国際学術誌に投稿中である。

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)

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

第 58 回日本植物生理学会年会 (2017 年 3 月 16~18 日)

『サンゴの緑色蛍光は共生藻類 “ 褐虫藻 ” を誘引する』

相原悠介 丸山慎一郎 井口亮 Andrew Baird 高橋俊一 皆川純

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

相原 悠介 (Aihara, Yusuke)

基礎生物学研究所・環境光生物学研究部門・

NIBB リサーチフェロー

研究者番号 : 40636891

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

()