

## Mimicされる生き物

泉 美知

## はじめに

「海洋生物の研究・海洋生物を用いた研究」という言葉から思い浮かべるものは、生態系の研究、魚介類の個々の種に関する研究、もしくは、モデル生物としての利用というものではないでしょうか。私がポスドク時代を過ごしたカリフォルニア大学サンタバーバラ校 (UCSB) では、太平洋に臨むその地の利を生かして海洋学・海洋生物学の研究が盛んに行われていますが、私の目には彼らのアプローチはとてもユニークに映りました。今回はUCSBの研究者たちが海洋生物へ注ぐ情熱をご紹介します。

## イカから学ぶ

## チューナブルリフレクターのメカニズム

Dr. Morseの研究テーマの一つに、イカの皮膚表面で発する構造色の解析があります。一般的に、構造色は多層膜により反射された光が干渉しあって生じます。構造色としてよく知られる例としては、南米に生息するモルフオチョウの光沢のある青い色があげられます。キチン

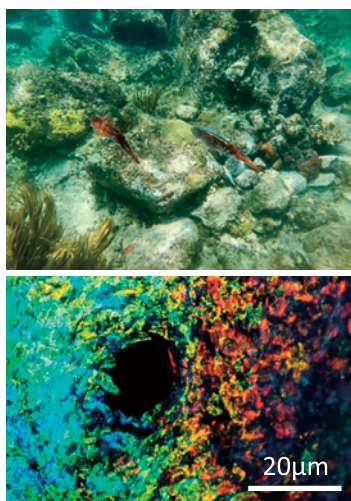


図1. 海中を泳ぐカリフォルニアヤリイカ (*Doryteuthis opalescens*) (上) と構造を発する *D. opalescens* のイリドフォアパッチ (イリドサイト細胞の集合部分) の拡大写真 (下)

を成分とする鱗粉のリッジと呼ばれる部分にある突起と、その間に存在する空気が多層膜様構造を形成し、各々の層の厚み、屈折率、リッジ間の距離が青色光の選択的干渉に最適な条件を生み出してくれたおかげで、私たちはあの美しい色を楽しむことができるのです<sup>1)</sup>。一方、頭足類のヤリイカ科 (*Loliginidae*) では、イリドサイトと呼ばれる細胞が、広い波長域の光の干渉を可能にするため、鮮やかな金属光沢のある構造色を観察することができます<sup>2)</sup> (図1下)。モルフオチョウの鱗粉で見られるのと同様な多層構造は光ファイバーや発光ダイオードなどの反射器に使用されています。酸化チタン、酸化ガリウムなどの無機物から作られた多層構造反射器は、特定の波長の光を反射することには長けていますが、広い波長域には対応できません。これに対し、広波長域に対応できるチューナブルリフレクターは、光学迷彩などへの応用が期待されていますが、まだまだ開発段階にあります。そのため、*Loliginidae* がどのようにして波長変化に対応しているかを研究・解析することは、非常に有益といえます。

1982年にHanlonによって、アメリカケンサキイカ (*Loligo pealei*) やカリフォルニアヤリイカ (*Doryteuthis opalescens*) の胴体の背側に存在するイリドサイトは、アセチルコリン依存的に構造色を呈し、それがさまざまな色を示すことが報告されました<sup>3)</sup>。続いて、彼のチームは1990年に、電子顕微鏡を使った観察から、①イリドサイトにはBraggリフレクター様の多層膜構造を持つ



図2. 水槽の底で佇む *E. scolopes*

オルガネラが存在し、②構造の一部はタンパク質から成り、この層の厚みは呈する構造色によって変化することを報告しました<sup>4)</sup>。しかし、この論文で示された顕微鏡写真からは、タンパク質層の状態も呈する構造色によって変化している可能性が示されており、屈折率の変化が呈色の変化に寄与している可能性も排除できませんでした。これ以降、Loliginidaeの構造色に関しては、動物学的な研究が主に行われていました(コミュニケーション・カモフラージュのツールとしての研究のみ)。この層構造を構成するタンパク質の一次構造は20年以上不明でしたが、2004年にハワイアンダンゴイカ(*Euprymna scolopes*) (図2)のイリドフォアディスクからreflectinと呼ばれるタンパク質の単離および遺伝子同定がされると<sup>5)</sup>、分子生物学的・生化学的な研究が進み始めました。

Dr. Morseのラボでは、定常的に構造色を発している*E. scolopes*ではなく、アセチルコリン誘導性の*L. pealei*および*D. opalescens*の色調変化のメカニズムの解明に焦点を当てた研究を行っています。彼らは、これまでに多層構造を構成する四種類のreflectinをコードする遺伝子を同定しました(Ref-A1, A2, B1およびC)。それらのタンパク質は、そのチロシン・セリン残基がアセチルコリン誘導的にリン酸化されると構造色を発し、一方、リン酸化阻害剤存在下では、アセチルコリンを添加しても構造色を発しないことを報告しました<sup>6,7)</sup>。また電子顕微鏡観察から、reflectinはイリドサイト内で10–50 nmのナノ粒子として存在し、さらに超分子構造体として存在することを明らかにしました<sup>8)</sup>。また、組換えreflectinを用いて、*in vitro*でナノ粒子の再構成実験を行い、粒径が濃度依存的およびpH依存的に変化し、結果的にイリドサイトの屈折率の変化に寄与していることを報告しました<sup>8,9)</sup>。彼らのこれまでの成果をまとめると、イカの皮膚で見られるチューナブルリフレクターは、ナノ粒子の粒径変化を可逆的に繰り返すことで、広い波長域の光の反射を可能にしているようです。これらの研究結果から得られた知見は、実際、人の手によるチューナブルリフレクターの開発に貢献しています<sup>10,11)</sup>。

### 貝から学ぶ耐水性接着剤

Dr. Waiteのラボでは、ムール貝として知られるイガイ科のカリフォルニアイガイ(*Mytilus californianus* Conrad) (図3上) やサンドキャスル・ワーム(*Phragmatopoma californica*) (図3下) が生産する接着性タンパク質の研究を行っています。これらのタンパク質は、海辺にあって水分が多く多孔質の岩場で激しい波(~25 m/s)にさらされても、ムール貝を波に流さ

れることなく岩場に接着させ、また、サンドキャスル・ワームの巣が破壊されるのを防いでいます。

ムール貝は、タンパク質で作られた足糸と呼ばれる器官で、岩場に強固に接着します。足糸は糸状部分と吸着盤からなり、吸着盤で岩場に接着しています。これまでに、9種類の吸着盤特異的なタンパク質が同定されており、その中でも、Dr. Waiteのラボではmussel foot proteins (Mfp) と呼ばれるタンパク質に注目し、その機能解析を行っています。MfpはMfp-1からMfp-6までが同定されており、これらのアミノ酸配列、分子量はさまざまです。しかし、以下にあげるような特徴がMfpすべてに見られます。①多くのチロシン残基が翻訳後修飾され、3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) として存在する、②等電点がpI 9.5~10.5である。DOPAは、親水性の表面(マイカ、ハイドロキシアパタイト)と水素結合を形成し、金属イオンや酸化金属と配位結合し、そのためDOPAを含むタンパク質の接着性は高くなります。Mfpの中でも、Mfp-3とMfp-5は吸着盤と岩場との接着面に局在し、含まれるすべてのチロシン残基がDOPAに変換されていることがわかっています。また、他にもリシン、ヒスチジン、アルギニン、リン酸化セリン、グルタミン酸といった正・負の電荷を持った残基を多く含むため、Mfpには双性イオンとしての特徴が強く見られます。また、Mfpは一定の構造をとらない天然変性タンパク質と考えられています<sup>12,13)</sup>。Dr. Waiteの研究室では、Mfp

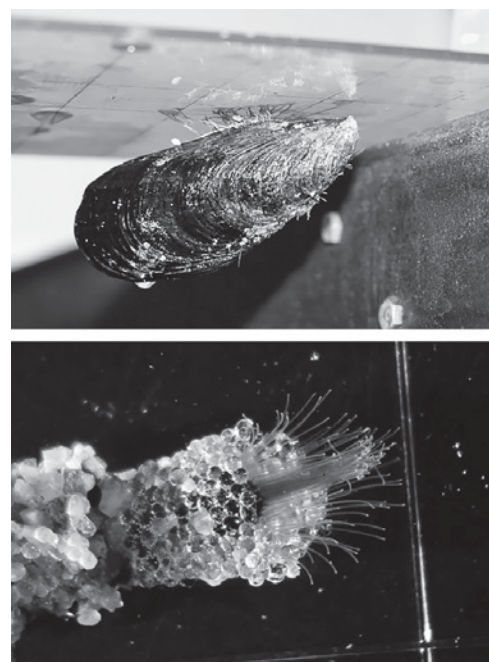


図3. プラスチック板に足糸で吸着する*M. californianus* (上) とガラスビーズで巣を作る*P. californica*

が海水中に放出されると二液相分離が起こり、Mfpがコアセルベートとして挙動するために、高い吸着性が生み出されることを報告しました<sup>14)</sup>。また彼らは、合成ポリマーにDOPAを導入すると、ポリマーの水中での接着力が強化されることを示しました<sup>14-16)</sup>。さらに、正に帯電したポリマーと負に帯電したポリマーの2種類を用いてMfpの高い双極性を模倣し、それらを水中に放出すると、正・負混合のポリマーが水中で接着物質として挙動することを示しました<sup>17,18)</sup>。彼らの研究結果から得られた知見は、実際、耐水性接着剤の開発に活かされています。今後、このように水分の多い環境下で、迅速にかつ高い吸着性を示すポリマーは医療用接着剤などへの利用が期待されています。

### 材料調達

海洋生物を材料とする研究は、いわゆる「モデル生物」を使った研究ではありません。したがって、材料の確保・維持に一工夫、一労力が必要となります。たとえば、構造色の研究には、新鮮で、かつ皮膚に損傷のないイカを使用する必要があります。北大西洋に生息する *L. pealei* の研究のために、カリフォルニア州からマサチューセッツ州まで行き、一週間、朝から晩まで、構造色の誘導・撮影を繰り返し、さらに数十杯のイカの皮を剥ぎ続けたこともあります。また、生きた *D. opalescens* の調達には、地元（車で片道一時間弱ほどの港町）の漁師と交渉したのですが、「取れたときに連絡する」という、研究プランを立てるのにきわめて悪い条件を飲んだこともあり、連絡が入るのはいつも金曜日の正午過ぎでしたが、連絡が入るとすぐに、ハッチバックに、氷を敷き詰めたかなり大きめのクーラーボックスを積みこみ、その中に海水が入った大型のゴミ袋を入れ、携帯用の酸素ボンベで海水に酸素を通しながら、イカを引き取りに行きました。氷は、水温を低くしイカの活動を緩慢にし、皮膚が傷むのを防ぐために必要です。引き取ったあとは、急いでラボに帰り、大型の水槽に移して保存します。渋滞に巻き込まれたりすると、酸素ボンベが持つかどうか気が気ではありませんでした。水槽のサイズも、ヤリイカ科のイカは高速で泳ぎ回り、水面より高いところまで跳ねたりするので、大きく深いものを用います。また、水槽の中では、イカは海中よりもかなり高い密集度に置かれるため（図1上、図4）、数日間飼育していると、互いに攻撃しあい、皮膚がぼろぼろになってきます。この点においては、小さな *E. scolopes* は活発に動かずおとなしく、比較的飼いやすいイカといえます。Loliginidaeを水槽内でできるだけ長く維持するため、また、ストレスを少

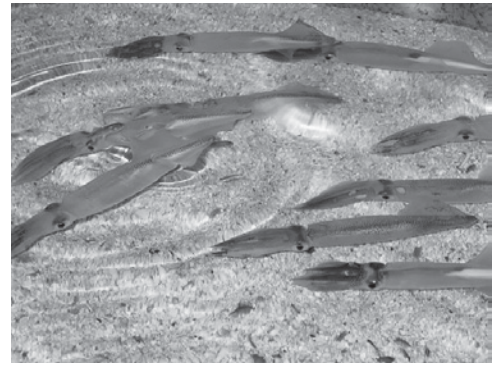


図4. 水槽の中で餌の金魚を食べる *D. opalescens*

なくするためにも給餌が必要で、生きた金魚やゼブラフィッシュをペットショップで購入し、餌として与えました。イカを生きたまま、かつ、皮膚が研究に使える状態で飼育するには約一週間が限界ですので、その間は他の実験は中断し、生きたイカを使ってしかできない測定実験に集中する必要があります。

耐水性の接着タンパク質の研究で用いられているムール貝やサンドキャスルワームは、実験のたびに新しく調達する必要はなく、研究室の水槽の中で飼育・維持することができます。かといって、継代飼育の方法が確立しているわけではありませんので、定期的に補充・更新が必要です。そういう時は、大潮の日に、研究室のメンバーが沖合まで歩いていき採取し、研究室に設置された水槽に移します。実験・観察が行いやすいように、ムール貝にはグリッドの描かれた透明なプラスチック板に足糸を再形成させ（図3上）、サンドキャスルワームには粒径のそろったガラスビーズを与え、それで巣を再構築させています（図3下）。この研究には、強度試験が必要で、基本的に無機物を測定する機器を使って測定するので、そこでも一工夫も二工夫も必要となります。

### それでもやめられない

このように、飼育・維持・購入が容易でないものを研究対象にするのは、簡単なことではありません。しかし、そこから得られる知見はとても興味深く、今回ここで紹介した以外にも、海洋生物は、生物模倣材料・技術の開発に貢献しています。たとえば、オレンジ海綿の作るガラス骨格の形成過程の研究からは、オルトケイ酸テトラエチルを加水分解しシリカを形成する合成ペプチドの開発が行われ<sup>19,20)</sup>、深海に住むガラススポンジ、カイロウドウケツ (*Euplectella aspergillum*) のガラス骨格の構造学的・光学的な解析から得られた情報は、生物模倣材料・技術の開発に貢献しています<sup>21-23)</sup>。カイロウドウケ

ツの多くが、限られた海域の深海に生息するため、生きたサンプル入手が非常に困難で、バイオ研究者が貢献できる余地が少ないのが残念なところです。

海洋生物を研究材料とすると、実験を始める前に越えなければいけないハードルがいくつもあります。しかし、「難しい」「できない」といわれると、研究者として、また、挑戦者としての情熱を掻き立てられ、それ故に、海洋生物は、私たちを惹きつけてやまない研究対象なのかもしれません。

#### 謝 辞

I am deeply grateful to Professor Daniel E. Morse, Ph.D., and Professor J. Herbert Waite, Ph.D., for sharing the latest research information. I also would like to thank to Dr. Daniel G. DeMartini for providing pictures used in the review.

#### 文 献

- 1) Kinoshita, S. *et al.*: *Proc. Biol. Sci.*, **269**, 1417 (2002).
- 2) Cloney, R. A. and Brocco, S. L.: *Am. Zool.*, **23**, 581 (1983).
- 3) Hanlon, R. T.: *Malacologia*, **23**, 89 (1982).

- 4) Cooper, K. M. *et al.*: *Cell Tissue Res.*, **259**, 15 (1990).
- 5) Crookes, W. J. *et al.*: *Science*, **303**, 235 (2004).
- 6) DeMartini, D. G. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **290**, 15238 (2015).
- 7) Izumi, M. *et al.*: *J. R. Soc. Interface*, **7**, 549 (2010).
- 8) Tao, A. R. *et al.*: *Biomaterials*, **31**, 793 (2010).
- 9) Levenson, R. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **291**, 4058 (2016).
- 10) de la Rica, R. and Velders, A. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 2875 (2011).
- 11) Fudouzi, H.: *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **12**, 064704 (2011).
- 12) Wang, J. *et al.*: *Adv. Mater.*, **20**, 3872 (2008).
- 13) Lee, B. P. *et al.*: *Annu. Rev. Mater. Res.*, **41**, 99 (2011).
- 14) Wei, W. *et al.*: *Acta Biomater.*, **10**, 1663 (2014).
- 15) Lee, H. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12999 (2006).
- 16) Seo, S. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, 9214 (2015).
- 17) Zhao, Q. *et al.*: *Nat. Mater.*, **15**, 407 (2016).
- 18) Ahn, B. K. *et al.*: *Nat. Commun.*, **6**, 8663 (2015).
- 19) Cha, J. N. *et al.*: *Nature*, **403**, 289 (2000).
- 20) Cha, J. N. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 361 (1999).
- 21) Aizenberg, J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 3358 (2004).
- 22) Aizenberg, J. *et al.*: *Science*, **309**, 275 (2005).
- 23) Sundar, V. C. *et al.*: *MRS Proceedings*, **774**, 115 (2003).