

# 海岸のハマトビムシが視物質の起源を教えてくれる

浜松医科大学医学部 総合人間科学講座 生物学 外山 美奈 (Toyama, Mina)

## はじめに

地球上に存在する生物の約80%は節足動物である<sup>1)</sup>。これまで昆虫類と甲殻類は進化的に遠いと考えられてきたが、近年、複数の分子系統解析の結果から、これらの2つの綱が近縁であることがわかり、これらを汎甲殻類 (Pancrustacea) とする分類が提唱されるようになった<sup>2)</sup>。

節足動物は視覚受容器として同じような構造の複眼をもち、昆虫類も甲殻類も例外ではない。複眼の構成単位は個眼であり、それぞれの個眼の表面には角膜と円錐晶体からなる2つのレンズ構造があり、レンズの下方にはいくつかの視細胞が存在している。それぞれの視細胞は多数の微絨毛 (microvilli) を突出させており、この微絨毛の集まりを感桿分体<sup>かんかんぶんたい</sup>という。レンズから続く光路上に感桿分体が位置し、その感桿分体の集まりを感桿という。この視細胞が突出させている微絨毛上には光受容タンパク質である視物質が大量に含まれ、視覚応答はその視物質の光異性化から始まる。つまり解剖学的には、視物質が含まれる微絨毛が光受容の始まる部位といえる (図1 a)。

視物質は、オプシンと呼ばれるタンパク質部分に、ビタミンAのアルデヒド誘導体であるレチナールなどの発色団が結合したものである。オプシンは1本のポリペプチド鎖が、7回膜を貫通する構造をとっている (図1 b)。光を受容した視物質は、発色団が11-*cis*型から *all-trans*型に光異性化することで、ロドプシンから活性型メタロドプシンに変わる。活性型メタロドプシンが存在することで、細胞内伝達分子が信号を運び、細胞のチャネルを開閉し節足動物の視細胞は脱分極応答を示して、光受容した信号を脳へ送り、行動の変容を引き起こしている。

これまで視物質発色団は4種報告があり (図2)、節足動物ではレチナールは3種の同属体、レチナール (A1)、3,4-ジデ

ヒドロレチナール (A2)、3-ヒドロキシレチナール (A3) が知られている。4番目の視物質発色団である4-ヒドロキシレチナール (A4) は、深海に生息するホタルイカ類のみに発見されている<sup>3)</sup>。A1は、視物質発色団として Wald G.<sup>4)</sup> によって最初に発見されたことが示すようにほとんどすべての生物がもっている。これまで視物質は昆虫類でたくさん研究されていて、ハエでA3が発見された<sup>5)</sup> ことをきっかけに、昆虫類にはA1とA3の存在が確認された<sup>6) 7)</sup>。甲殻類でも例外ではなく、ほとんどがA1をもっていて、ザリガニなどの一部の甲殻類がA1とA2の両方をもつことが報告され、甲殻類はA1とA2のみの視物質発色団をもつと考えられていた。

分子系統解析により進化的に近いとされる昆虫類と甲殻類なのに、なぜ昆虫類だけがA3をもつか? 筆者はこれまで、さまざまな環境に生息する魚類の視物質発色団を網羅的に分析し、海水魚はほぼすべてがA1のみをもつが、淡水魚にはA2をもつものがあることを明らかにしてきており<sup>8)</sup>、生物の生息環境と視物質の関係について注目してきた。そこで、環境適応能力が高く、海水に生息するものは砂浜から深海まで生息し、それ以外のものは淡水や陸上にまで地球上のあらゆる所に生息している甲殻類端脚目の生物を用いて、光環境と眼の関係について、視物質発色団に注目して調べることにした。

手始めにこれまで本研究室で研究材料とされてきた地中海沿岸を中心にヨーロッパ各地の海岸域に生息するハマトビムシ *Talitrus saltator* について、環境スペクトルと複眼の視物質発色団の関係を解析することを試みた。

## 甲殻類でのA3の発見

*T. saltator* は、地中海沿岸の砂浜の潮間帯上部に生息する一般的な端脚類である (図3)。*T. saltator* は乾燥することを避け

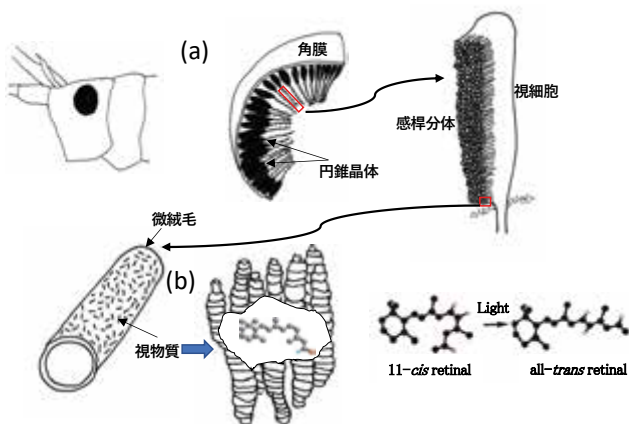


図1 視物質は網膜上にある  
(a) 複眼を構成する個眼は角膜と円錐晶体からなるレンズとその下方には視細胞が存在する。視細胞は多数の微絨毛を突出させており、この集まりを感桿という。微絨毛には光受容タンパク質である視物質が大量に含まれる。  
(b) 微絨毛に含まれる視物質は7回膜貫通型のタンパク質と発色団からなる。発色団は、光を受容すると11-*cis* から *all-trans* へと光異性化する。

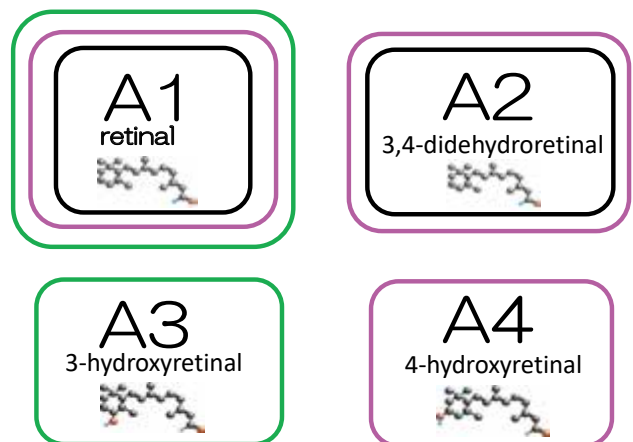


図2 視物質発色団の種類  
視物質発色団はこれら4種が報告されている。黒色で示す脊椎動物ではA1とA2が、緑色で示す昆虫ではA1とA3が、赤色で示すホタルイカではA1, A2, A4の存在が確認されている。

て海へ移動し、また濡れすぎること避けて陸へ移動する習性があり、その際、太陽や月、天空のスペクトル分布や風景などの cue を使って、海と陸間を直線的に移動することが、イタリアを中心におこなわれてきた数多くの研究で明らかにされてきた<sup>9)~13)</sup>。本種が視覚を用いて Orientation していることは行動学的に強く示唆されてきたが、複眼の詳細な研究はなされていなかった。そこで本種が光受容する波長帯域を検討するために、視物質発色団の光異性化する波長を特定する実験をおこなうこととした。これまで甲殻類では視物質発色団として A1 と A2 しか存在が確認されていなかったが、甲殻類と進化的に近いとされる昆虫類に A3 があることがわかっていたので、念のため、本種の複眼について A3 に関する化学分析も実施した。

視物質発色団の解析は、概ね Suzuki and Makino-Tasaka (1983)<sup>14)</sup> の方法に従い、ホモゲナイザーを用いて眼をすり潰し、ヒドロキシルアミンによってオキシム化した発色団を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて a Water-type A-012 (SIL) packed column (6 mm × 150 mm, Yamamura Chemical Laboratories Co. Ltd.) を通過させて分析した。A1 は最初の45分の溶出液 (7% ジエチルエーテル, 0.075% エタノール / *n*-ヘキサン) で溶出され、A3 は同一のカラム内に停滞しており続く溶出液 (30% 酢酸エチル, 1% イソプロピルアルコール / *n*-ヘキサン) で次の45分間で溶出される。T. saltator の30匹分の頭部から抽出しオキシム化した視物質発色団を HPLC で分析した結果が図4である。驚いたことに、図4のクロマトグラムが示す通り、T. saltator は甲殻類でありながら、A1 に加え A3 ももっていることを見つけた。これらの視物質が実際に機能しているのかどうかを調べるために、375 nm, 450 nm, 526 nm, 580 nm, 655 nm の各波長の光を30分間照射して選択光照射 (selective-light-adaptation) 実験をおこなったところ、A1 は短波長の光でよく 11-*cis* 型から all-*trans* 型に光異性化することがわかり、また A3 は UV と長波長の光でよく 11-*cis* 型から all-*trans* 型へ光異性化することがわかった。この結果から、A1 も A3 も、視物質発色団として光応答性があり機能していることが確認でき (図5)、A3 が甲殻類の視物質発色団であることを世界ではじめて発見できた。



図3 地中海沿岸に生息するハマトビムシ *Talitrus saltator*

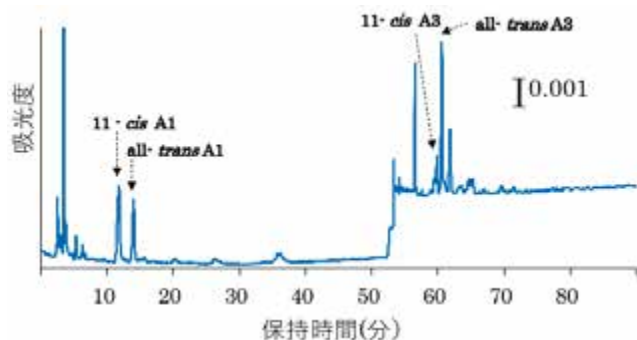


図4 ハマトビムシの複眼の視物質発色団の分析  
最初の45分の溶出液 (7% ジエチルエーテル, 0.075% エタノール / *n*-ヘキサン) で A1 が、次の45分の溶出液 (30% 酢酸エチル, 1% イソプロピルアルコール / *n*-ヘキサン) で A3 が検出された。

## さまざまな光環境にいる甲殻類のもつ 視物質発色団の関係を調べる

端脚目のハマトビムシで、初めて甲殻綱が視物質発色団として A3 をもつことを確認したが、では他の甲殻類の発色団はどうなのだろう？ 陸、湧水、砂浜、潮間帯、浅瀬、海、深海などのさまざまな光環境に生息する採集可能な甲殻類の端脚目 Amphipoda をはじめ、等脚目 Isopoda, 十脚目 Decapoda も A3 をもつのかどうか調べることにし、フィールド調査によりまた一部は購入して入手し、研究室で視物質発色団の分析をおこなった。

材料として用いた端脚目の生息環境は以下のとおりである。陸上種のおカトビムシ *Platorchestia humicola* は、大学構内の林の落ち葉の下 (図6 a) から採集した。林床の落ち葉の下は暗く、常に湿った状態であった。淡水域のヒメアナンデールヨコエビ *Jesogammarus fluvialis* は湧水池 (図6 b) に生息し、水温は年間を通じて15℃で、沈水性の水生植物が繁茂していた。海水域のうち、直射日光が当たる潮間帯に生息するニホンスナハマトビムシ *Sinorchestia nipponensis* およびタイリクスナハマトビムシ *Sinorchestia sinensis* は、潮間帯上部の砂浜 (図6 c) の海草などの漂着物の下で多く見られた。また、ニホンヒメハマトビムシ *Platorchestia pachyopus* およびヒメハマトビムシ *Platorchestia joi* は、潮間帯中部の砂利浜 (図6 d) の漂着物の下に多く観察された。また、常に海水面下にあるアマモやアオサなどが繁茂しているいわゆるアマモ場 (図6 e) では、ニッポンモバヨコエビ *Ampithoe lacertosa* やオオワレカラ *Caprella kroeyeri* が多く採集された。浜名湖のアマモ場は水深が浅く、大潮の満潮時でも水面から数 m 以内で光が届きやすい環

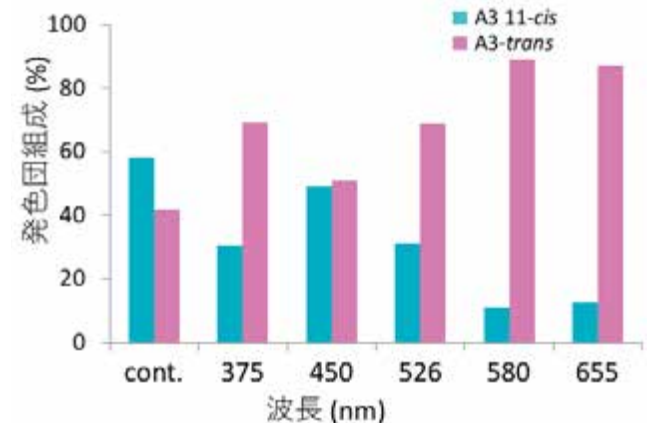
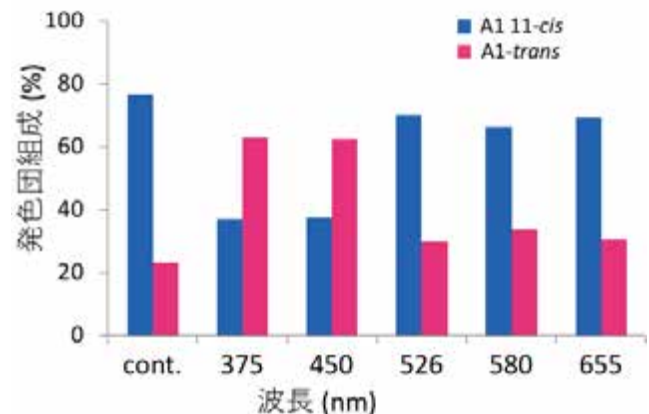


図5 ハマトビムシの複眼の光異性化実験※  
A1 は375 nm, 450 nm の短波長でよく光異性化する。A3 は紫外光375 nm と526 nm, 580 nm, 655 nm の長波長でよく光異性化する。

境である。海水域に生息するヒトツメスガメ *Ampelisca cyclops* は、下田沖水深40 mの海底からドレッジ採泥し、実験室内で選別採集した(図6 f)。超深海種のカイコウオオソコエビ *Hirondellea gigas* はJAMSTECとの共同研究によりマリアナ海溝チャレンジャー海淵(水深10,900 m)から採集されたものである。さらに分析種を増やすため、淡水種の *Hyaella azteca* は購入して、潮間帯の *Orchestia montagai* と *Talorchestia ugolinii* はイタリア・フィレンツェ大学の Ugolini 教授から送っていただいで解析に用いた。

比較として用いた等脚目と十脚目の種は、可能な限り前述の端脚目の生息地と同じ環境から採集したが、採集ができなかったものについては、近似した光環境に生息する種を入手し比較に用いた。等脚目では、陸上種としてオカダンゴムシ *Armadillidium vulgare*、淡水域ではミズムシ *Asellus hilgendorfi*、潮間帯上部ではハマダンゴムシ *Tylos granuliferus* (新潟県)、潮間帯中部ではキタフナムシ *Ligia cinerascens*、浅海ではイソハラムシ *Cleantiella isopus*、深海種はオオグソクムシ *Bathynomus doederlenii* を用いた。また、十脚目では、陸上種としてサワガニ *Geothelphusa dehaani*、淡水種としてモクズガニ *Eriocheir japonica* およびミナミヌマエビ *Neocaridina denticulata*、潮間帯上部の種としてコメツキガニ *Scopimera globosa*、潮間帯中部ではイソガニ *Hemigrapsus sanguineus*、浅海種ではアマモ場で採集されたテナガエビ *Macrobrachium nipponense*、ガザミ *Portunus trituberculatus*、モエビ *Metapenaeus moyebi*、イセエビ *Panulirus japonicus* の他、シヤコ *Oratosquilla oratoria* (瀬戸内海産) を用い、海水域に生息する種としてケガニ *Erimacrus isenbeckii* (北海道産)、深海種としてサクラエビ *Sergia lucens* (駿河湾産) を用いた。

その結果が表1である。表1が示すように、実験に用いた等脚目と十脚目はすべてA1をもち、端脚目のみが、A1とA3をもつことがわかった。

図7は端脚目の生息環境と視物質発色団についてまとめた図である。この図のように端脚目の視物質発色団と生息域の関係に注目してみると、淡水、陸上、潮間帯に生息する種はA1とA3の両方もしくは、A3のみをもつことがわかった。また、海水に生息する種ではA1のみをもっていた。興味深いこ

とに超深海に生息するカイコウオオソコエビはA3をもっていた(論文投稿中)。昆虫類の視物質発色団のA3の分布に関して、Smith W.C. and Goldsmith T. H. が、生息域や属や科による関連はないことを報告している<sup>15)</sup>。昆虫類の、移動能力の高さが分布域に関連性をもたせていないのかその理由は明瞭ではないが、端脚目は地球上に広く分布しているがそれぞれの種の生息域は限定されてされていることが、今回の明瞭な結果を示したことに繋がったのかもしれない。

## おわりに

本研究により、昆虫類でしか確認されていなかったA3を甲殻類のハマトビムシがもち、視物質発色団として機能していることを発見できた。また、甲殻類端脚目内でA3をもつ種が複数存在することが示されただけでなく、A3をもつ種は潮間帯から上部の陸域にわたって限られた環境内でのみ生息していることがわかった。一方、等脚目や十脚目ではA3をもつ種はみられなかった。

A3は地球大気の酸素濃度が上昇した時に出現した昆虫類のみに存在する特有な発色団で、昆虫類が視物質発色団としてA3をもつ理由は酸素濃度環境の変化への適応だとこれまで考えられてきた<sup>16)</sup>が、昆虫類よりも進化的に古く、種分化の際に酸素濃度上昇に曝されてない甲殻類がA3をもつことの発見は、A3が視物質発色団として昆虫類特有のものだけでなく、地質学年代の酸素上昇のイベントによって引き起こされたこととは異なる要因があったことを示唆する進化的にも重要な発見である。今後、甲殻類全般の視物質発色団を探索すると同時に、分子系統解析や環境要因との関連などを広げることで、視物質の進化に迫ることができると考えている。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、筑波大学下田臨海実験センターと琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設には野外調査の際、様々な便宜を図っていただいた。また、本研究は公益財団法人水産無脊椎動物研究所の2016年個別研究助成(2016KO-4)によって実施した。この場を借りて、感謝申し上げる。



図6 実験材料と生息場所と採集風景

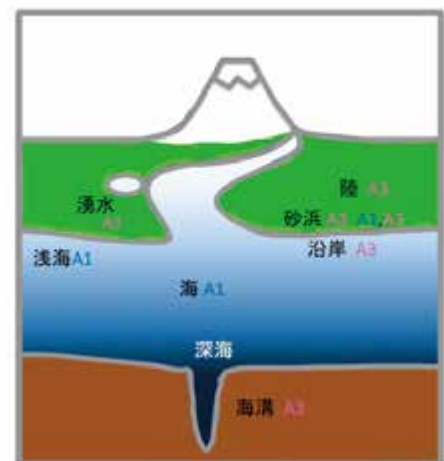


図7 端脚目の視物質発色団の地理的分布  
端脚目では淡水、陸上、潮間帯に生息する種はA1とA3の両方もしくは、A3のみを、海産のものはA1のみをもっていた。

表1 甲殻類の視物質発色団の種類と地理的分布の関係

生息地	端脚目 Amphipoda	発色団の種類	発色団の量 pmol/eye	等脚目 Isopoda	発色団の種類	発色団の量 pmol/eye	十脚目 Decapoda	発色団の種類	発色団の量 pmol/eye
陸生	<i>Platorchestia humicola</i> (オカトビムシ)	A3	2.75	<i>Armadillidium vulgare</i> (オカダンゴムシ)	A1	0.53	<i>Geothelphusa dehaani</i> (サワガニ)	A1	30.71
湧水	<i>Jesogammarus fluvialis</i> (ヒメアナンデルルヨコエビ)	A3	2.85	<i>Asellus hilgendorfi</i> (ミスムシ)	A1	0.085	<i>Eriocheir japonica</i> (モクズガニ)	A1	111.35
	<i>Hyalella azteca</i>	A3	0.26				<i>Neocaridina denticulata</i> (ミナミヌマエビ)	A1	22.86
潮間帯上部	<i>Talitrus saltator</i> (ハマトビムシ)	A1, A3	0.70, 2.90	<i>Tylos granuliferus</i> (ハマダンゴムシ)	A1	2.12	<i>Scopimera globosa</i> (コメツキガニ)	A1	4.75
	<i>Sinorchestia nipponensis</i> (ニホンスナハマトビムシ)	A3	4.09						
	<i>Sinorchestia sinensis</i> (タイリクスナハマトビムシ)	A3	4.98						
潮間帯中部	<i>Platorchestia pachypus</i> (ニホンヒメハマトビムシ)	A3	2.15	<i>Ligia cinerascens</i> (キタフナムシ)	A1	11.6	<i>Hemigrapsus sanguineus</i> (イソガニ)	A1	20.22
	<i>Orchestia montagu</i> * イタリア	A3	4.92						
	<i>Platorchestia joi</i> (ヒメハマトビムシ)	A3	3.12						
	<i>Talorchestia ugolini</i> * イタリア	A3	9.66						
浅海	<i>Amphioe lacertosa</i> (ニッポンモバヨコエビ)	A1	2.28	<i>Cleantiella isopus</i> (イソヘラムシ)	A1	0.26	<i>Oratosquilla oratoria</i> (シヤコ)	A1	92.23
	<i>Caprella kroeyeri</i> (オオフレカラ)	A1	0.60				<i>Macrobrachium nipponense</i> (テナガエビ)	A1	47.11
							<i>Portunus trituberculatus</i> (ガザミ)	A1	35.35
							<i>Metapenaeus moyebi</i> (モエビ)	A1	9.01
							<i>Panulirus japonicus</i> (イセエビ)	A1	48.44
海 (水深40~100m)	<i>Ampelisca cyclops</i> (ヒトツメスガメ)	A1	2.51				<i>Erimacrus isenbeckii</i> (ケガニ)	A1	681.84
深海	<i>Hirondellea gigas</i> (カイコウオオソコエビ)	A3	21.44	<i>Bathynomus doederlenii</i> (オオグソクムシ)	A1	300.27	<i>Sergia lucens</i> (サクラエビ)	A1	2.49

参考文献

- Chapin K. J. (2017) Arthropod life history, *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*, DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6\\_820-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_820-1).
- Zrzavý J., Štys P. (1997) The basic body plan of arthropods: insights from evolutionary morphology and developmental biology, *J. evol. Biol.*, 10, 353-367.
- Matsui S., Seidou M., Uchiyama I., Sekiya N., Hiraki K., Yoshihara K., Kito Y. (1988) 4-Hydroxyretinal, a new visual pigment chromophore found in the bioluminescent squid, *Watasenia scintillans*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 966, 370-374.
- Wald G. (1935) Carotenoids and the visual cycle, *J. Gen. Physiol.*, 19, 351-371.
- Vogt K., Kirschfeld K. (1984) Chemical identity of the chromophores of fly visual pigment, *Naturwissenschaften*, 71, 211-213.
- Gleadall I. G., Hariyama T., Tsukahara Y. (1989) The visual pigment chromophores in the retina of insect compound eyes, with special reference to the Coleoptera, *Journal of Insect Physiology*, 35, 787-795.
- Goldsmith T. H., Marks B.C., Bernard G. D. (1986) Separation and identification of geometric isomers of 3-hydroxyretinoids and occurrence in the eyes of insects, *Vision Research*, 26, 1763-1769.
- Toyama M., Hironaka M., Yamahama Y., Horiguchi H., Tsukada O., Uto N., Ueno Y., Tokunaga F., Seno K., Hariyama T. (2008) Presence of rodopsin and porphyropsin in the eyes of 164 fishes, representing marine, diadromous, coastal and freshwater species-A qualitative and comparative study, *Photochemistry and Photobiology*, 84, 996-1002.
- Pardi, L., Papi, F. (1952) Die sonne als kompass bei *Talitrus saltator* Montagu (Amphipoda Talitridae), *Naturwissenschaften*, 39, 262-263.
- Pardi, L., Papi, F. (1953) Ricerche sull'orientamento di *Talitrus saltator* Montagu (Crustacea, Amphipoda). I. L'orientamento durante il giorno in una popolazione del litorale tirrenico, *Z. Vergl. Physiol.*, 35, 459-489.
- Ugolini A., Scapini F., Pardi L. (1986) Interaction between solar orientation and landscape visibility in *Talitrus saltator* (Crustacea: Amphipoda), *Mar. Biol.*, 90, 449-460.
- Ugolini A., Melis C., Innocenti R. (1999) Moon orientation in adult and young sandhoppers, *J. Comp. Physiol. A*, 184, 9-12.
- Ugolini A., Galanti G., Mercatelli L. (2009) Difference in skylight intensity is a new celestial cue for sandhopper orientation (Amphipoda, Talitridae), *Anim. Behav.*, 77, 171-175.
- Suzuki T., Makino-Tasaka M. (1983) Analysis of retinal and 3-dehydroretinal in the retina by high-pressure liquid chromatography, *Anal. Biochem.*, 129, 111-119.
- Smith W. C., Goldsmith T. H. (1990) Phyletic aspects of the distribution of 3-hydroxyretinal in the class Insecta, *J. Mol. Evol.*, 30, 72-84.
- Seki T., Vogt K. (1998) Evolutionary aspects of the diversity of visual pigment chromophores in the class Insecta, *Comp. Biochem. Physiol. B*, 119, 53-64.