

カイアシ類由来ルシフェラーゼの謎

茂里 康

地球の表面積の71%を占める海洋は、その大半(92%)が水深200 mより深い外洋域によって占められている。外洋域の生物生産はプランクトンによって支えられており、全世界の動物プランクトン相に普遍的に優占するのが「カイアシ類」である。カイアシ類は地球上でもっとも種数の多い多細胞生物であると考えられており、その生命機能の解明は、海洋生物の種多様性の維持形成メカニズムを明らかにする上で重要である。また個体数も多く種数も多いカイアシ類は、未知なる物質を生合成し、保持している可能性が高い¹⁾。

2008年に下村脩博士らが「緑色蛍光蛋白質 (GFP) の発見とその応用」でノーベル化学賞を受賞されたことにより脚光を浴びたオワンクラゲ (*Aequorea victoria*) は、発光能を有する海洋生物の代表格である。その他にも、ウミホタル、ウミサボテン、ホタルイカ、タコ、エビ、ゴカイ、ヒトデ、ウミウシ、貝、魚類など、さまざまな海洋生物が発光能を有することが報告されており、プランクトンの中でも特にカイアシ類についても、発光能を有することが広く知られている²⁾。

発光能を有するカイアシ類については、おもにヨーロッパ近海に生息する種類について解析が行われており、少なくとも58種類以上とこれまで報告されていた³⁾。ヨーロッパ近海以外の海域については詳細には調べられておらず、それ以上の種類の発光カイアシ類が存在すると考えられている。

また、発光の本体である、発光酵素 (ルシフェラーゼ) の遺伝子クローニングの報告は、非常に限られている。その原因としては、第一に単一の発光カイアシ類を大量に採集することが容易ではない。一般的に発光能を有するカイアシ類の多くは深海に生息するため、海洋調査船に同乗し、特殊なプランクトンネットを利用して、深海から採集する必要がある。次にカイアシ類を採集した後、プランクトン研究の専門家の助けを借りて、分類・同定後、分子生物学的手法で遺伝子のクローニングを行う必要がある。さらに遺伝子クローニング後は、細胞生物学、光化学等の技術を駆使して、その性質解明を行う必要がある。

カイアシ類のルシフェラーゼの遺伝子クローニングが初めて報告されたのは、熱帯から亜熱帯の350 m~1000 mの深海に生息するカイアシ類の一種の *Gaussia princeps* 由来の遺伝子についてで、カナダとギリシャのグループの共同研究で2002年に報告された。その後、2004年にロシアのグループが北極海産 *Metridia longa* から、2008年に日本のグループが太平洋産 *Metridia pacifica* からの遺伝子クローニングを報告している⁴⁾。最近、竹中らは、日本近海に生息する発光カイアシ類を網羅的に採集し、

9種類の新たなルシフェラーゼの遺伝子クローニングを報告した⁵⁾。その結果、まず明らかになったのは、カイアシ類のルシフェラーゼの基質は、アミノ酸の一種であるチロシンとフェニルアラニンから生合成されるセレンテラジンであり、ATPが不要であることである。発光スペクトルの最大波長は、いずれのルシフェラーゼでも490 nm付近であり、青緑色の光を発する。カイアシ類のルシフェラーゼタンパク質は、分子量20 kDa前後と、これまで報告されてきた中では最小であり、N末端の約20アミノ酸前後の配列が分泌シグナルとして機能する、分泌タンパク質である。タンパク質の一次構造上には、約60アミノ酸からなる二つのタンデムリピート構造が見られ、特にそれらリピート構造の中で高度に保存されたアミノ酸残基 (システイン、ロイシン、プロリン、アルギニン等) が、認められる。さらに、カイアシ類の中で発光能を有するものは、Augaptiloidea上科であり、その中でもルシフェラーゼはMetridinidae科とHeterorhabdidaeおよびLucicutiidae科に分類できることが判明した。

ルシフェラーゼの遺伝子クローニングは単に発光生物の生命機能の解明だけではなく、特にカイアシ類のルシフェラーゼは分泌型であるため、哺乳類由来の培養細胞を宿主細胞として用いたレポーターアッセイ (遺伝子モニタリング) などによく用いられている。またルシフェラーゼ活性を測定する際、細胞を回収・溶解して細胞抽出液を調製する必要がないことから、長時間測定可能なライブセルアッセイや、ウミホタルルシフェラーゼを共用したデュアルレポーターシステムなどにも広く用いられている。これまでにカイアシ類の分泌型のルシフェラーゼが商品化されたものとしては、*Gaussia princeps* 由来のルシフェラーゼ (GLuc) がNew England BioLabs社 (<http://www.nebj.jp/>) から、*Metridia longa* 由来のルシフェラーゼ (MLuc) が、タカラバイオ社 (<http://www.takara-bio.co.jp/>) から、それぞれ販売されている。

ところで、カイアシ類のルシフェラーゼのおもしろい特徴として、耐熱性があげられる。たとえば、120度、20分間の加熱処理でも完全に活性が失われない。カイアシ類の生育する深海は、低温、暗黒の環境であることを考慮しても、なぜ耐熱性が備わっているのかは、いまだ深い謎である。

- 1) 長澤和也：カイアシ類学入門，東海大学出版 (2005)。
- 2) 大場ら：化学と生物，**45**，681 (2007)。
- 3) Herring, P. J.: *Hydrobiologia*, **167/168**, 183 (1988)。
- 4) Takenaka, Y. *et al.*: *Gene*, **425**, 28 (2008)。
- 5) Takenaka, Y. *et al.*: *Mol. Biol. Evol.*, **29**, 1669 (2012)。