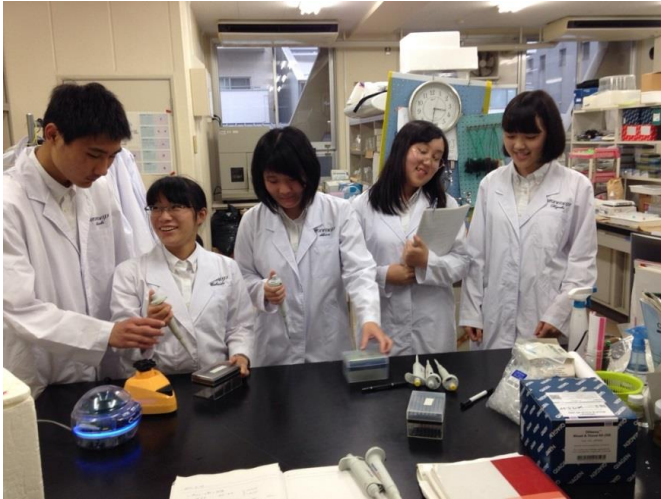


# ヨコエビの植物繊維を分解するセルラーゼ獲得の進化を探る



実施担当者  
広島県立広島国泰寺高等学校  
教諭 福本 伊都子  
指導教諭 三浦 淳子

## 1 はじめに

昨年度までに、先輩方は食性の研究によって本校近くに生息するヨコエビがセルラーゼを持っている事を明らかにした。一方、先行研究で、カイコウオオソコエビが gigas セルラーゼを持っていることが明らかになった<sup>1)</sup>。一般的なセルラーゼは、天然のセルロースを複数の段階を経てグルコースに分解するが、gigas セルラーゼは天然のセルロースを 1 回でグルコースに分解することができる (図 1)。

そこで私たちは、本校近くに生息するヨコエビが gigas セルラーゼを持っているかを明らかにし、それに加え、系統樹を基に本校近くに生息するヨコエビが gigas セルラーゼを獲得した道筋を明らかにしようと考えた。

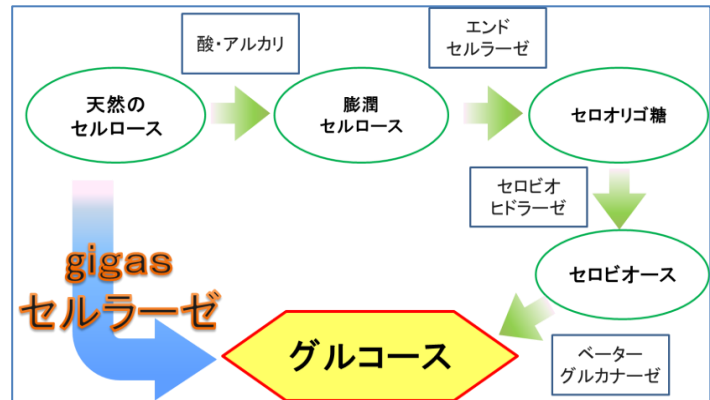


図 1 gigas セルラーゼの働き

## 2 研究内容

### 2-1 研究の目的と仮説

本研究では、本校近くで生息するヨコエビが gigas セルラーゼを持っているのか、また、その系統関係をミトコンドリア遺伝子の解析によって明らかにすることを目的とし、次のような仮説を設定した。

- I. 本校近くに生息するヨコエビは gigas セルラーゼを持っている。
- II. 本校近くに生息するヨコエビは進化の過程で gigas セルラーゼを獲得した。

## 2-2 研究の材料

本研究では、広島県で初めて先輩方が発見したフロリダマミズヨコエビ、本校近くの元安川や元宇品海岸などで採集したヒゲツノメリタヨコエビ及びヒメハマトビムシなどを材料とした<sup>2)</sup>。



図2 ヒゲツノメリタヨコエビ



図3 ヒメハマトビムシ



図4 ミナミフロリダヨコエビ

## 2-3 仮説 I の検証方法と結果及び考察

### (1) 仮説 I の検証方法

- ①ヨコエビ希釈液(20倍希釈)を1%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液, 1%セロビオース水溶液にそれぞれ入れ, 25°Cのインキュベータで1日置く。
- ②TLCプレート上に①をスポットし, 比較するために1%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液・1%セロビオース水溶液・1%グルコース水溶液もともにスポットし, 展開させる。  
(展開液 ブタノール:酢酸:蒸留水=2:1:1)
- ③溶媒前線まで上がったらドライヤーで乾かし, 硫酸をスプレーして, 再び乾かす。
- ④黒く変色した位置から有機物の有無を調べる。

### (2) 仮説 I の結果と考察

それぞれの展開物とRf値を表1に示す。

表1 展開物とRf値



図5 展開後のTLCプレート

展開物	Rf値	分解	
グルコース	0.19		
セロビオース	0.63		
CMC	0.42		
ヒゲツノメリタヨコエビ	セロビオース	0.60	×
	CMC	0.65	○ セロビオース
フロリダマミズヨコエビ	セロビオース	0.65	×
	CMC	0.22	○ グルコース

gigas セルラーゼはセルロースを直接グルコースに分解することができる。そのため、ヒゲツノメリタヨコエビはgigas セルラーゼを持っておらず、フロリダマミズヨコエビはgigas セルラーゼを持っている可能性が示唆された。

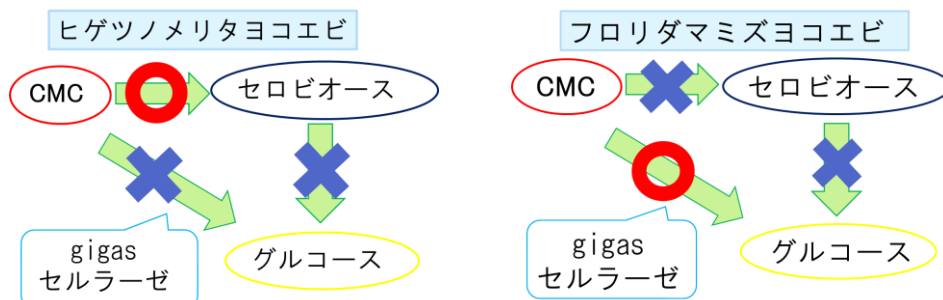


図6 実験結果の模式図

## 2-4 仮説Ⅱの検証方法と結果及び考察

### (1) 仮説Ⅱの検証方法

- ①QIAGEN Blood&Tissue キットを用いてミトコンドリア DNA を抽出し, SapphireAmp® Fast PCR Master Mix とプライマーを用い, ミトコンドリア DNA の CO I 領域の増幅を行った。
- ②DNA の抽出・増幅ができているかをアガロースゲルを用いた電気泳動で確認した(図7)。
- ③DNA の解析は業者に委託した。



図7 電気泳動のようす

### (2) 仮説Ⅱの結果と考察

ミトコンドリア遺伝子の抽出・増幅及び分析に成功した7種類のヨコエビについて, MEGA6 のソフトを用いて NJ 法で作成した系統樹を図8に示す。

図8で示すように, 7種類のヨコエビは大きく3つのグループに分かれ, 外来種のフロリダマミズヨコエビよりヒゲツノメリタヨコエビが他のグループと大きく離れていることが分かった。図9に示したこれまでの形態に基づく系統樹<sup>3)</sup>では, フロリダマミズヨコエビとニッポンヨコエビは, 同じヨコエビ下目に分類されているが, 今回ミトコンドリア DNA で作成した系統樹では, 他の下目に分類されている種よりも遺伝的に離れていることがわかった。

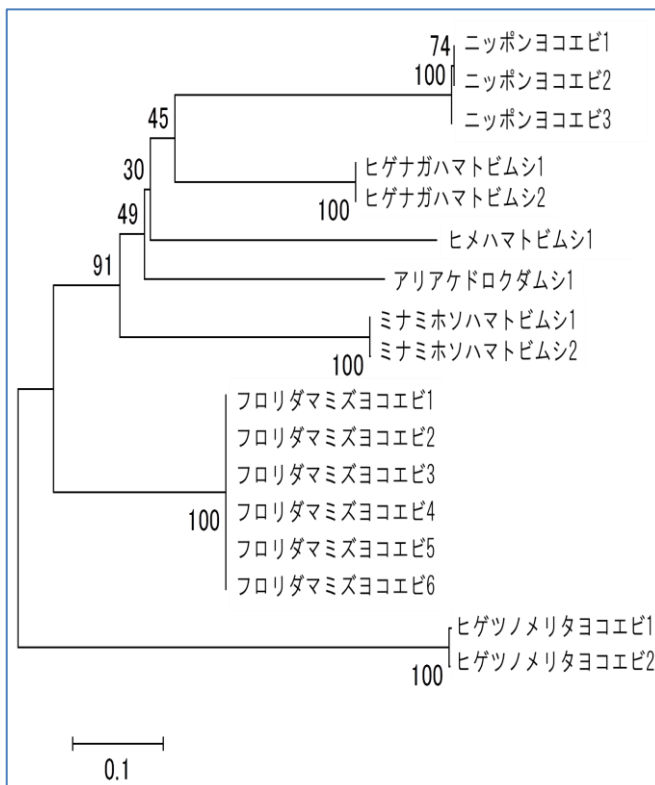


図8 ミトコンドリア DNA による系統樹

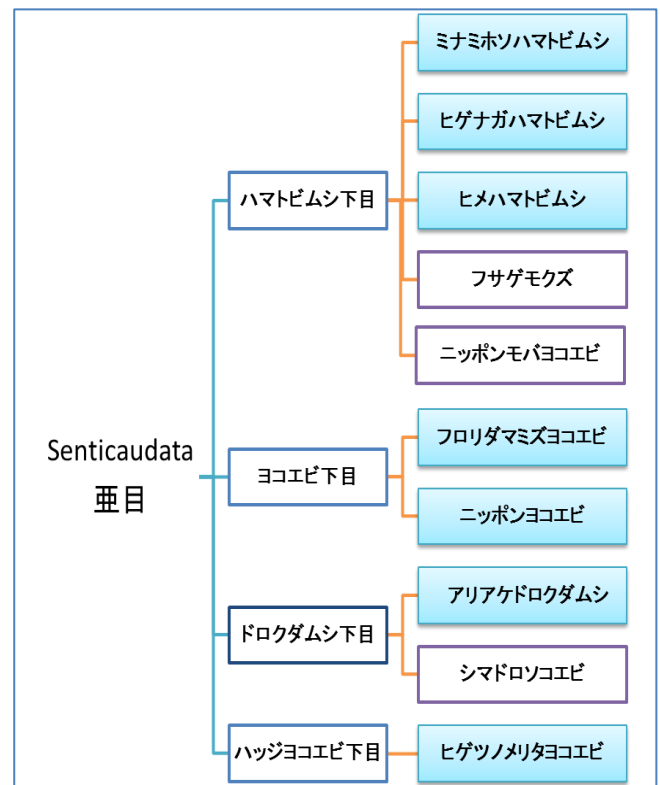


図9 形態による系統樹

### 3 まとめ

gigas セルラーゼを持つ可能性について、検証できたのは2種類のみにとどまり、当初の目的であった、本校近くで生息するヨコエビが gigas セルラーゼを持っているのか、また、その系統関係をミトコンドリア遺伝子の解析によって明らかにするという目的を十分に達成することはできなかった。しかし、フロリダマミズヨコエビが gigas セルラーゼを持っている可能性があることから、ミトコンドリア遺伝子の分析でフロリダマミズヨコエビと近縁であることがわかったニッポンヨコエビ、ヒゲナガハマトビムシ、ヒメハマトビムシ、アリアケドロクダムシ、ミナミホソハマトビムシも gigas セルラーゼを持っている可能性があると考えられる。さらに、これまでの形態に基づく分類とミトコンドリア遺伝子の解析による系統樹には違いがあることがわかった。

今後は、検証回数を増やしてデータの信頼性を高めるとともに、本校近くで採集できるシマドロソコエビ、モズミヨコエビ、フサトゲモクズ、ニッポンモバヨコエビ、フトヒゲカマキリヨコエビについても同様の検証を行ってきたい。

そして、最終的には、本校近くに生息するヨコエビを使い、図 10 のような効率良くバイオエタノールを生成するシステムを研究して、地球のエネルギー問題等の解決に貢献していきたい。

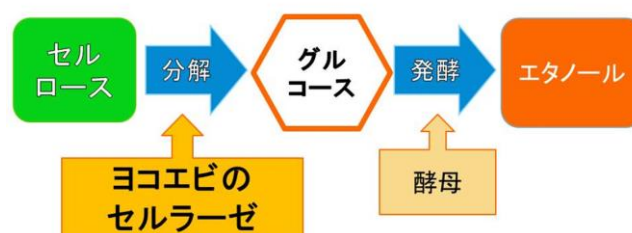


図 10 ヨコエビを用いたバイオエタノール生成

### 謝 辞

本研究を行うにあたり、多大なご支援をいただきました公益財団法人中谷医工計測技術振興財団に厚く感謝、お礼申し上げます。本校の地元、広島で開催されました成果発表会では、本研究以外に携わる本校生物班の生徒達の参加もお認めいただき、校種を越えた他校の研究発表を聴講することで、大きな刺激を受けることができました。ご配慮に重ねてお礼申し上げます。

また、本研究には、広島大学大学院教育学研究科准教授 富川光先生にご指導とご助言をいただきました。誠にありがとうございました。

### 参考文献

- 1) 「マリアナ海溝世界最深部に生息する超深海性ヨコエビの特異な生態の解明と新規セルラーゼの発見」小林 英城 JAMSTEC 独立行政法人海洋研究開発機構  
[https://www.jamstec.go.jp/j/about/press\\_release/20120816/](https://www.jamstec.go.jp/j/about/press_release/20120816/) (アクセス 2017/4/26)
- 2) 「東京湾のヨコエビガイドブック」, 小川 洋  
[http://marine1.bio.sci.toho-u.ac.jp/tokyobay/gammaridea\\_guide/gammaridea\\_tokyobay\\_1.3.pdf](http://marine1.bio.sci.toho-u.ac.jp/tokyobay/gammaridea_guide/gammaridea_tokyobay_1.3.pdf) (アクセス 2017/3/29)
- 3) “A Phylogeny and Classification of the Amphipoda with the establishment of the new order Ingolfiellida (Crustacea: Peracarida)” .