

助成番号 0623

ナンキョクオキアミの環境塩分変動に対する適応能力に関する研究： 地球温暖化の影響の予測に向けて

井上 広滋

東京大学海洋研究所

概要 近年、温室効果ガスの増加による全地球的な気候の温暖化が問題となっている。気候の温暖化は極地の氷床の融解を招き、その結果、海面の上昇を引き起こすうえ、閉鎖性の高い南極海では、淡水氷である氷床の融解は、海水塩濃度の低下を招くと考えられる。海水塩濃度の低下の生態系への影響を予測するためには、生態系を構成する生物の塩濃度変化に対する耐性を調べる必要がある。

本研究ではナンキョクオキアミ *Euphausia superba* の環境塩分濃度の変化に対する適応能力とそのしくみを明らかにすることを試みた。ナンキョクオキアミは南極海の殆どの大型動物の主食となる重要種であり、食物連鎖において同様の地位を持つ生物が他にいないため、南極海生態系の "Key Species" あるいは "Keystone Species" と呼ばれている。しかも、本種は生活史を通じて大陸の周辺に生息するため、氷床融解の影響を受けやすいと考えられる。しかし、本種を実験的に飼育することは極めて困難であり、塩分変化に対する耐性を調べた例はほとんどなかった。

本研究では、世界に先駆けてナンキョクオキアミの大規模な室内飼育に成功したオーストラリア南極局 (Australian Government Antarctic Division) において実験を行った。はじめに、ナンキョクオキアミを通常の海水から塩濃度の異なる海水 (通常海水の 50%~150%) に移し、1 日後の生残率を調べた。その結果、平均体長 3.09 cm の若齢個体は 75%~125% の範囲で問題なく適応できることがわかったが、体長 4.39 cm の成体は 75% 海水でも多くの個体が死亡した。従って、ナンキョクオキアミの環境塩分への適応力は体サイズによって変化し、大型個体のほうが塩分変動に弱いことがわかった。また、各塩濃度に 3~7 日間馴致した後、体液を採集して浸透圧を測定したところ、ナンキョクオキアミの体液は、環境浸透圧が変化すると環境とほぼ同じ浸透圧に調節されていた。従って、本種の体液調節様式は「浸透圧順応型」であることがわかった。

さらに詳細に体液調節のメカニズムを検討するために、細胞浸透圧の制御に関与していると考えられるタウリン輸送体 (TAUT)、生殖、脱皮、浸透圧調節の総合的な制御に関わっていると考えられる farnesoic acid *O*-methyltransferase (FAMeT) の cDNA のクローニングを行った。今後、得られた情報を活用しながら、ナンキョクオキアミの環境適応機構を明らかにしていきたい。

1. 研究目的

近年、温室効果ガスの増加による全地球的な気候の温暖化が問題となっている (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007)。気候の温暖化はグリーンランドや南極の氷床の融解を招き、その結果、海面の上昇を引き起こすことが懸念されている (Alley et al., 2005; Velicogna and Wahr, 2006)。一方、淡水氷である氷床の融解は、周辺海域の海水の広範囲なまたは局所的な塩濃度の低下を引き起こすと考えられる (Jacobs et al., 2002; Meredith and King, 2005)。海水塩濃度の低下の生態系への影響を予測するためには、生態系を構成する生物の塩濃度変

化に対する耐性を調べる必要がある。

ナンキョクオキアミ *Euphausia superba* は南極海のほぼ全ての大型動物の主食となる重要種であり (Murphy et al., 2007; Hill et al., 2007)、南極海生態系の "Key Species" あるいは "Keystone Species" と呼ばれている。ナンキョクオキアミは生活史を通じて大陸の周辺に生息するため (Siegel, 2005; Nicol, 2006)、氷床融解の影響を受けやすいと考えられる。しかし、本種を実験的に飼育することは極めて困難であり (Hirano and Matsuda, 2003; Nicol, 2003)、塩分変化に対する耐性を調べた例はほとんどなかった。

本研究では、世界に先駆けてナンキョクオキアミの大規模な室内飼育に成功したオーストラリア南極局 (Australian Government Antarctic Division) との共同研究により、ナンキョクオキアミの環境塩分変動に対する耐性と体液制御機構の解明を試みた。まずはじめに、本種がどれぐらいの塩濃度範囲に適応できるのかを調べ、次いで適応した個体の血リンパの浸透圧を測定してどのようなタイプの体液調節様式を持つのかを明らかにした。そして、詳細な体液調節機構を解明するための第一歩として、体液調節に関わると予想されるふたつの蛋白質、タウリン輸送体 (TAUT) および farnesoic acid *O*-methyltransferase (FAMeT) をコードする cDNA の単離を行った。

2. 研究方法

2.1 ナンキョクオキアミ

南極海で研究船により採捕され、オーストラリア南極局において水槽飼育されているナンキョクオキアミを用いた (King et al., 2003)。体長 3.09 ± 0.277 cm (平均±標準誤差) の若齢個体と、体長 4.39 ± 0.300 cm の成体を実験に用いた。

2.2 馴致実験

試験はすべて 100 L 円形水槽を用いて行った。海水はタスマニア沿岸で採集した外洋海水 (34%) を用いた。低濃度海水 (50, 75% 海水) は逆浸透水で希釈することにより、高濃度海水 (125, 150% 海水) は人工海水粉末 (Ocean-Nature Sea Salt, Auasonic, Wauchope, NSW, Australia) を外洋海水に添加することにより調製した。調製後、屈折計により濃度の確認を行った。水温は、0.5°C に維持した恒温室中に設置することにより常時 0.5°C に維持

した。光によるストレスをさけるために常時暗条件とした。馴致実験は、ストック水槽からナンキョクオキアミを手網ですくい取り、各濃度の海水に 45 個体 (50, 150% 海水には 15 個体) を移してスタートした。死亡個体の計数と分析用のサンプリングは実験開始時および開始後 24, 72, 168 時間後目に行った。

2.3 サンプリング

サンプリングは各個体をすくい取り、まず注射器を用いて血リンパを採取し、その後実体顕微鏡下で解剖しながら眼と眼柄、鰓、中腸腺、消化管、その他の頭胸部、その他の腹部に分けて、液体窒素で凍結し、分析まで -80°C で保存した。また、一部の個体は、組織解析用にブアン液または 2.5% グルタルアルデヒド液で固定した。

2.4 浸透圧測定

血リンパのおよび飼育海水の浸透圧は浸透圧計を用いて測定した。

2.5 RNA の抽出

凍結組織からは Isogen (ニッポンジーン) を用いて全 RNA を抽出した。

2.6 cDNA クローニング

cDNA クローニングは、Inoue et al. (2003) に記載の方法に則って行った。まず、全 RNA から SMART cDNA Library Synthesis Kit (Clontech, Palo Alto, CA, USA) を用いて二本鎖 cDNA を合成し、それを鋳型として degenerate primer (表 1) による PCR により部分配列を得た。ついで、特異的プライマー (表 1) とキットに添付のユニバーサルプライマーを用いて RACE を行って cDNA 全長を得た。DNA の塩基配列は ABI3130 シーケンサーを用いて行った。

表 1 クローニングに用いたプライマー

名称	配列 (5'→3')	目的
TAUT		
TAUT1-1'	GTIGGICTIGGNAAYGTNTGG	最初の PCR (F)
EsTAUT-A2	TCRAANAGYTGRAANACRTA	最初の PCR (R)
EsTAUT-S4	CCCCGATTACTTGAGAAGAGGTCGAA	3'RACE
EsTAUT-A4	CCACCCATATCATCGACACCATCTG	5'RACE
FAMeT		
FAMeT-S2	GCCTCNGCCRTCAGRTTYAARAA	最初の PCR (F)
FAMeT-A2	GCGGATGGCNGARTGYTGRTTYTCCCA	最初の PCR (R)
EsFAMeT-S4	TTTCATGCAGCAATGATGCCATA	3'RACE
EsFAMeT-A4	AGAACTCCCAGAACTCGTCTT	5'RACE

3. 研究結果

3.1 各塩濃度への適応能力

通常の海水から塩濃度の異なる海水に移して 24 時間後の生残率を図 1 に示した。若齢個体は 75%~125%の範囲で問題なく適応することがわかったが、成体は75%海水でも約半数が死亡し、まだ生存していた個体も殆ど運動することができず瀕死の状態であった。従って、ナンキョクオキアミの環境塩分への適応力は成長とともに変化し、成体は若齢個体よりも塩分変動に弱いことがわかった。

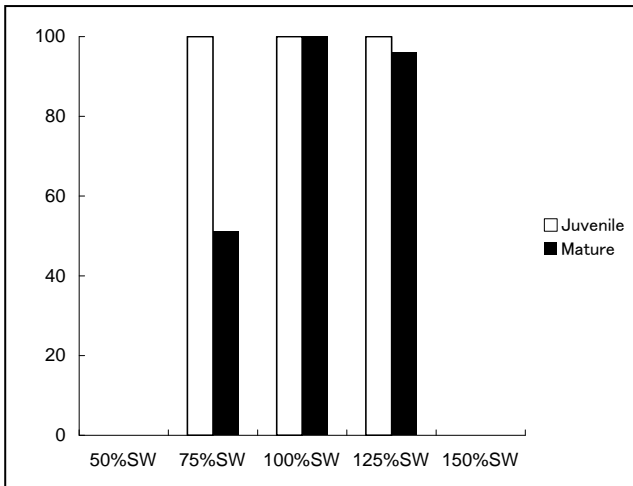


図1 ナンキョクオキアミ若齢個体及び成体の環境塩分に対する適応能力

3.2 体液浸透圧

24 時間後に生存した試験区については、馴致開始後 72 時間後、168 時間後の体液浸透圧を測定した。72 時間後、168 時間とも全く同じ結果となったので、168 時間後の

結果を図2に示す。ナンキョクオキアミの体液浸透圧は飼育水の浸透圧とほぼ同じであることがわかった(図2)。

3.3 TAUT cDNA のクローニング

体液浸透圧を環境水に合わせるしくみを調べるために、TAUT cDNA のクローニングを行った。鰓の cDNA から 2,024 bp の cDNA が単離され、615 残基の蛋白質が演繹された(図3)。その構造よりナンキョクオキアミのタウリン輸送体は他の生物と同様 12 回膜貫通型の膜受容体であることがわかった。アミノ酸配列の相同性は、ヒトと 52.4%、コイと 53.6%、ムラサキイガイと 50.9%、カキと 47.5%であった。

3.4 FAMEt cDNA のクローニング

浸透圧調節への関与が示唆されている FAMEt についても cDNA クローニングを行った。得られた cDNA は 1,416 bp で、280 残基の蛋白質をコードしていた(図4)。アミノ酸配列の相同性は、カニ(Cancer)と 65.4%、エビ(Metapenaeus)と 62.7%、ロブスター(Homarus)と 59.9%であった。

4. 考察

4.1 ナンキョクオキアミの塩濃度に対する適応能力と生活史

本研究では、まず様々な濃度の海水に対するナンキョクオキアミの適応能力を調べた。その結果、若齢個体では 75%海水から 125%海水までの範囲で問題なく適応できることがわかったのに対し、成体では 75%海水には十分に適応できないことがわかった。これまでに本種の塩濃度変化に対する適応能力を調べた唯一の例は、Aarset and

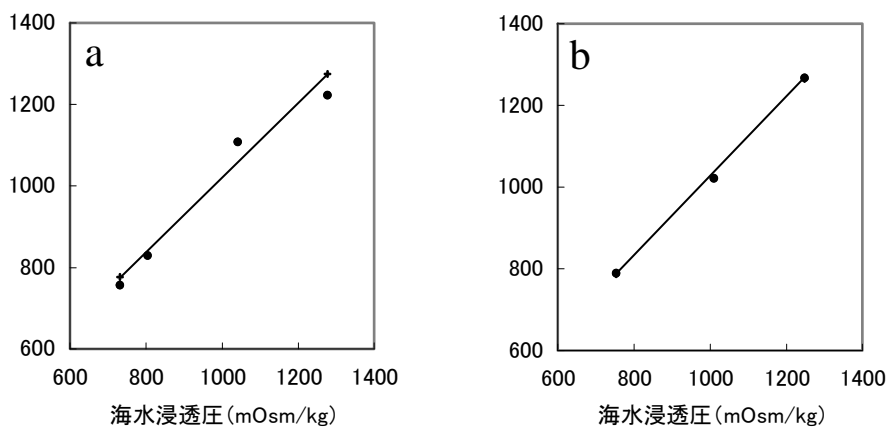


図2 ナンキョクオキアミ若齢個体(a)、成体(b)の飼育水の浸透圧と体液浸透圧の関係。回帰直線は (a) $y = 0.9107x + 111.7$ ($r^2 = 0.97$)、(b) $y = 0.9643x + 60.09$ ($r^2 = 0.99$)

```

human      --MATKEKLQCLKDFHKDILKPSGKSPGTRPEDEAEG----KPPQREKWSKIDFVLS
carp       --MAQKEKLQCLKDFHKDILKPSGKSPGTRPEDEAEG----KHPQREKWSKIDFVLS
mussel     MDEPKED-TTWISEKLPSKVDNPEVTSTDTTWTSSSGSDRLKPKLKKREVWGGKIDFLLA
oyster     MNDSKQNGYSSDGDPLSNKQQAALSSDASATTSSSEG----PKMKRREVWANKLDFLLA
krill      -----ZMDVPSAEQLMKKKGGDLGGGCKDKDNAKGG----ELREREQWSNKLDFVLS
           :           .           :           : .** *.*:**:*:

human      VAGGFVGLGNVWRFPYLYCKNGGGAPLIYPYIFLFGSGLPVFFLEIIGQYTSSEGGITCW
carp       VAGGFVGLGNVWRFPYLYCKNGGGAPLIYPYIFLFGSGLPVFFLEIIGQYTSSEGGITCW
mussel     CVGFVGLGNVWRFPYLYCKNGGGAPLIYPYIFLFGSGLPVFFLEIIGQYTSSEGGITCW
oyster     CIGFSVGLGNVWRFPYLYCKNGGGAPLIYPYIFLFGSGLPVFFLEIIGQYTSSEGGITCW
krill      VIGFCVGLGNVWRFPYLYCKNGGGAPLIYPYICAVLGGVPMFFLEVGLGQFMSEGGISCW
           * *****:**:* *****: . *:* *****: **:* :**:* *

human      EKICPLFSGIGYASVVIVSLLNVYIVILAWATYYLQSFQKELPWAHCNHSWNTPHC--
carp       EKLCPIFTGIGYASIVIVSLLNIYYIVILAWGLYYLQCFQPELPWASCNNKWNTENC--
mussel     K-ITPLFQGIYASAIIVFLLNCEYNIISWSLYLFFSSFTAVLPWSHGNNENWENECTN
oyster     K-ITPLFQGIYACTIIVFLLNCEYNIILTWTFYLLFSSFTAVLPWSQGDNEWSELCRN
krill      K-LCPLAQGVMAAIVCNWLVNYYIVIIAWALYYFYISFQPILPWVTCNDWNTTEAC--
           : *:* *:* *:* : ** *:* *:* **:* * * ** * .:**: *

human      -----MEDTMRKNKSVNITIS-----STNFTSPVIEFWERNVLSLSPGI
carp       -----IEDTLRKNKTLWGAVN-----ATNFTSPVIEFWERNVLSLSDGI
mussel     LYKTNP-----VNSTISLLANVTADVEDVISNLSKKLCDPVTEFWERKVLNLSGGV
oyster     SSKMAASLMSNYSKMASSVVKLNDTMTTVAITVAENTTKCDPVTEFWESKVLQSSGV
krill      -----VSFDTVNHTYLMDLR-----AQNITPRDSVVEFWDRKVLQITDGV
           .           :           : .** *:*:**:*:

human      DHPGSLKWDLALCLLVLVLCFFCIWKGVRSTGKVVYFTATPFAMLLVLLVRGLTLPGA
carp       EDVGHVKWDLALCLLAVVVICFFCIWKGKSTGKVVYFTATPFVMLVLLVRGVTLPGA
mussel     DHPGAIKWDLALCLLAWIIIVYFCIWKGIKSSGKVMYFTATSPYIFMLLIRGVTLDGA
oyster     DHAGTVKWDLALCLLAWIIVYVYFCIWKGIKSSGKVMYFTATSPYIFMLLIRGVTLDGA
krill      DMGMGMVWPLFGTLLFSWILTYFAIWKGVKVTGKIMYFTATPFYMLTALLIRGATLPGA
           : . * : * * * * * * * : : .*****: **:*:*.* ** * : : **:* * * **

human      GAGIKFYLPDITRLEDPQVWDAGTQIFFSYAICLGAMTSLGSYNKYKNSYRDCMLLG
carp       AEGIKFYLPNLTRLGDPVWWDAGTQIFFSYAICLGAMTSLGSYNKYKNSYRDCMLLG
mussel     ELGKYLLPDWSKLRDPQVWWDAGTQIVFTYSLALGTLTALGSYNKFHNSRDIIFLS
oyster     AEGIKFYLLPDWSKLQEAQVWWDAGTQIFFSYAICLGAMTSLGSYNKFHNSYRDMIFA
krill      SIGIRYLLPKWEKLLDYKVVNDAGTQVYFYSYVALGGMIALGSYNKFNNSYRDMIFA
           *:::** * . * : : ** *****: :*:*:* * : : *****: . * : : :

human      CLNSGTSFVSGFAIFSVLGFMAQEQQVDIADVAESGPGLAFIAYPKAVTMMPLPTFWSIL
carp       GLNSATSFVSGFAIFSVLGFMAQEQQVDIADVAESGPGLAFIAYPKAVSMMPLPTFWAIL
mussel     CINSFTSLLAGLVIFSVLGFMAKRQGVSIADVAESGPGLAFIAYPEAVAQMPAAPFWSVL
oyster     GVNSFTSLLAGLVIFSVLGFMAKRQGVSIADVAESGPGLAFIAYPTAVAQMPVAPLWSVL
krill      IANSGTSFVSGFAIFSVLGFMSHQLLEPMDQVAEAGPGLAFIAYPKAMSQMLPAPLWSAM
           ** *:*:*:* * * * * * : : : *****: **:* * * * * * : :

human      FFIMLLLLGLDSQFVEVEGQITSLVDLYPSFLRKGYYREIFIAFVCSISYLLGLTMVTEG
carp       FFIMLLLLGLDSQFVEVEGQITSLVDLYPSFLRKGYYREIFIAFVCSISYLLGLTMVTEG
mussel     FFMILLLLGLDSQFVGEVGFVTAIVDYFPNQLRRKRREIFIGCVCFICFFIGLSMVTEG
oyster     FFMILLLLGLDSQFVGEVGFITACVDMYPHYLRIGKRREIFGTIVCFICPLIGLSMVTEG
krill      FFCMILMVLGDSQFVQVESVTAIVDLFPDYLRRRRRREVLVAIVDFIAGCTMMVMNG
           ** *:::** * * * * * * * : : * * * * * * * * * * * : . * . : : * * * *

human      GMYVFQFLDYAAASGVCLLWVAFEFCEVIAWIYGGDNLVDGIEDMIGYRPGP-----W
carp       GMYVFQFLDYAAASGVCLLWVAFEFCEVIAWVYVADNFYDAIEMIGYRPNP-----W
mussel     GMYVFQFLDYAAAS-RIVLVMTFFECVVAIYGVNRFYDNLQMMFQYKLSPFMSLMKV
oyster     GMYVFQFLDYASAS-RIVLVVAFEFCEVIVAYIYGINRYDNLMMFGRFRIAP-----V
krill      GMYVFQMFDTFSASGIIILLTICLCECIVIGWVYADRFYDNIYFMMLNYKVN-----Y
           *****:* * :** * * : : * * .: :** * . * * : * : : *

human      MKYSWAVITPVLVCGCFIFSLVKYVPLTYNK---TYVYPNWAIIGLWGLSALSSMLCVPLV
carp       MKWSWVITPFLVCGCFIFSLVKYVPLTYNK---VYEPDWISIGVWTLALASMICIPMV
mussel     MKYMWAITPFLFSMIIFIVGAIYSSELDYKRKSLTYQYPSWAIGVWGLALSSVIVWPIV
oyster     MKICWVFTPLFSLTIFVIMGAIYSSELDYKRKTYEYTPSWAIGVWGLALSVIWIPIV
krill      MKYCWKYITPVLGAMVIFAIVFHQPLTYNK---EYLYPDWAQACGWLWLASLWIPGY
           ** * * .**:* . * . : : * * : * * * * * . * * * * * : : *

human      IVIRLCQTEGPFVLRVYKLLTPRE-----PNRWAVE--REGATPYSRVTVMNGALVKP
carp       VVIKIQSDGPIERIKAVAAPVRGASSCPPEYQPKS--NELAQPLDPN--WNGGLTKP
mussel     FIVRLLQTPGTLRERFVITMPRLQRHQIREGEDMSKICVIDDEGEIESHIATSNTEP-
oyster     FFKRVIDAEGSIAQRLMSTTRPILKRHLRQGEDLTKV-VLDESCFPDPDPIQLQGLDPR
krill      AIYKFNQYPTFRERWIASTRPILKAHLRQDWDNSQ-----QLDYKKSVTMDPLTEHT
           . : . : * : * * * * * : : .           .

human      THIVETMM-----
carp       THIVETMM-----
mussel     --TLLSYSMYEKFLQKDSNV---
oyster     DEPLLANSVELQKIENSKRNETNGV
krill      EDDI-----

```

図3 タウリン輸送体のアミノ酸配列の比較

*は全種の一致、:は保存性の高い位置、・は性質の似たアミノ酸での置換を示す。

```

lobster MADN-WPAYGTDENKEYRFRIIKGKTLRFQVKAADHAHALTSGEEETDPMLEIFIGGWE
shrimp MADN-WPAYGTDENKEYRFRIIKGKTLRFQVKAADHAHALTSGEEETDPMLEIFIGGWE
crab MADE-I PALGTDENKEYRFRELDGKTLRFQVKTAKHDCHVAFTSAGEETDPIVEVFIGGWE
krill MGDEAWPSYGTDEHKNYRFRSLCGKTLRFQVKAADHVLCFTSKDEETSPMIEVFLGAW
*.*: *:*:****:*:*:**** :*****:*** :*:*:*** **:*:*:*:*
lobster GAASAIRFKK---ADDLTKVDTPDILNAEYREFWIAFDHNDNRVVGKGGWEPEFMSATVP
shrimp GAASAIRFKK---ADDLTKVDTPDILNAEYREFWIAFDHNDNRVVGKGGWEPEFMSATVP
crab GAASAIRFKK---ADDLTKVDTPDILSEGEYREFWIAVDHDEIRVVGKGGWEPLMQAIP
krill GSASAIRFNKGGSTDDLCKVETPDFLSEDEFREFWVTFDHDQIQVKGGEYEPFMSACPCP
*:*:****:* *:*:***:*.* :*:*:***:..*:*:***:***:***:***:***
lobster EPFEITHYGYSTGWGATGWWQFHSEMHFQTEDCLTYNFVVPVYGDTSFVSVACSNDAHLAL
shrimp EPFEITHYGYSTGWGATGWWQFHSEMHFQTEDCLTYNFVVPVYGDTSFVSVACSNDAHLAL
crab EPPFITHYGYSTGWGAVGWWKFMNDRVLTEDCLTYNFEPAYGDTFSFVSVACSNDAHLAL
krill EPPFVTHFGYSTGYGATGWRFRHRDRVLTSDDSLTYTWEVYGNVYTFRVCSNDAHAL
*** :*:****:***:***:* : : :*:***: *:*:*:*:* *:*:***:***
lobster TSGPEETTPMYEVFIGGWENQHSAIRLSKEGRSSGEMDKVDTPDIVCCEERKFTSSFK
shrimp TSGPEETTPMYEVFIGGWENQHSAIRLSKEGRSSGEMDKVDTPDIVCCEERKFTSSFK
crab TSGAEETTPMYEIFIGGWENQHSAIRLNK----GDDMAKVETPDALCCEERKFFVFSFR
krill ATAPEEGEPMVEIFLGGWENQHSAIRFNK----GDDMAKVETPDVLCNDNRKRSFVWSFR
:..* * * *:*:*****:.* *:*:***:*** :* :*: * * *
lobster DGHIKVGYQDSD-PFMENTDPEPWKITHVGYCTGWGASGKWKFEF
shrimp DGHIKVGYQDSD-PFMENTDPEPWKITHVGYCTGWGASGKWKFEF
crab NGHIKVGYKDTD-PFLQWTDPEPWKITHVGYCTGWGATGKWLDI
krill EGLIKVGCNGSEEPFLEWQNEEAFKVTQVGYCTGWGAHGKWKQTEI
:* **** :*:***:* :*:*:*:***** **:* :

```

図4 farnesoic acid *O*-methyltransferase (FAMEt) の配列の比較
記号は図3と同じ

Torres, 1989 らによる幼若個体(体長 1.5~2.5 cm)を用いた実験で、25~45‰(本研究における 74~132‰海水に相当)の海水に適応可能であったと報告している。従って、本種においては、成体よりも幼若個体のほうが適応できる塩濃度範囲が広いことになる。本種の生活史は南極大陸周辺において完結しているが、生活史の段階によって棲み分けが認められ、若齢個体の生息場所は成体より南極大陸寄りであることがわかっている(Siegel, 2005; Nicol, 2006)。大陸に近い水域では、年周期的に海水の形成や融解が起こっており、海水形成期には氷から塩分が出されるために付近の海水の塩濃度が上昇し、海水融解時には塩濃度が低下する。すなわち、若齢個体は自然条件下でも塩濃度の変化にさらされるため、高い適応能力が必要なのであろう。一方、より沖合に生息する成体は、若齢個体ほどには塩濃度の変化にさらされることがなく、塩濃度に対する適応力を維持する必要がないのかもしれない。

4.2 地球温暖化とナンキョクオキアミ

前項で述べた海水の形成や融解による塩分変動は年周期的なものであるが、地球温暖化により、「地球上最大の淡水リザーバー」とも呼ばれる大陸の氷床が溶解すると、海水の塩濃度の低下が起こると考えられる。Jacobs et al. (2002)は、ロス海における 20 世紀後半の塩濃度低下傾向について、表層での塩濃度低下速度を一年あたり

0.0063‰と報告している。今回ナンキョクオキアミ成体が致命的なダメージを受けた 75‰海水は、塩濃度約 25.5‰に相当するため、このペースで塩濃度の低下が継続すると約 1350 年後に 75‰ 海水と同レベルになる。また、融解した淡水が表層にとどまったり、水塊を形成したりすると、局所的に塩分の薄い水塊ができる可能性がある。しかも、南極半島で観察されている Larsen B 氷床の崩壊(Domack et al., 2005)のように、局所的な大崩壊があった場合、大きな低塩分水塊が生じる可能性がある。75‰海水ではわずか 24 時間で成体に致命的なダメージを与えることになり、樂觀を許さない。そのうえ、水温の上昇や、紫外線(Newman et al., 1999)も本種の生存に影響することが示唆されており、これらの要因の複合的な作用についても今後検討する必要がある。

4.3 ナンキョクオキアミの体液調節様式

塩濃度の異なる海水に馴致した個体の体液浸透圧が環境浸透圧とほぼ同じであったことより、ナンキョクオキアミは体液浸透圧を環境水に合わせる「浸透圧順応型」(井上, 2006)という様式の体液調節を行うことがわかった。浸透圧順応型の生物においては、一般にタウリンなどのアミノ酸を浸透圧調節物質(オスモライト)として用いて細胞の浸透圧を調節することが知られている(Hosoi et al., 2005; 2007)。従って、本種においても同様の調節をしているかどうかを調べるために、組織内のタウリンの移動を担う「タ

ウリン輸送体」という蛋白質の cDNA のクローニングを行った。今後、ナンキョクオキアミのタウリン輸送体の性質を解析するとともに、様々な塩濃度に馴致させたナンキョクオキアミにおける遺伝子発現や局在を調べ、本種の体液浸透圧調節機構を明らかにしていきたい。また、成長に伴い環境塩濃度に対する適応能力が変化することから考えて、成長、成熟、脱皮、浸透圧調節など様々な生理学的制御に関与する FAMEt (Gunawardene et al., 2002) の機能の研究が突破口になる可能性がある。本研究で単離したこれらの cDNA を活用して、今後より詳細な体液制御メカニズムの解明を目指したい。

5. 今後の課題

ナンキョクオキアミの体液浸透圧調節に関する情報がほとんどない状態から研究を開始し、これまでに適応能力の限界がおおよそわかってきた段階である。RNA 発現を調べるための凍結試料や、組織学的な解析を行うための固定試料を得ることができたので、クローニングした TAUT や FAMEt などの配列情報も活用しながらより詳しく適応のメカニズムを調べて行く予定である。また、平成 19 年度以降も引き続きオーストラリア南極局との共同研究を継続し、さらに詳しく適応の限界を調べて行くと同時に、脱皮や生殖との関連や、水温と浸透圧変化の複合的な作用なども将来調べて行きたい。

最後に、研究資金を提供してくださった財団法人ソルト・サイエンス研究財団に心から感謝の意を表します。

参考文献

- Aarset, A.V., Torres, J.J. (1989) Cold resistance and metabolic responses to salinity variations in the Amphipod *Eusirus antarcticus* and the krill *Euphausia superba*. *Polar Biology* 9, 491-497.
- Alley, R.B., Clark, P.U., Huybrechts, P., Joughin, I. (2005) Ice-sheet and sea-level changes. *Science* 310, 456-460.
- Domack, E., Duran, D., Leventer, A., Ishman, S., Doane, S., McCallum, S., Amblas, D., Ring, J., Gilbert, R., Prentice, M. (2005) Stability of the Larsen B ice shelf on the Antarctic Peninsula during the Holocene epoch. *Nature* 436, 681-685.
- Gunawardene, Y.I.N.S., Tobe, S.S., Bendena, W.G., Chow, B.K.C., Yagi, K.J., Chan, S.M. (2002) Function and cellular localization of farnesoic acid *O*-methyltransferase (FAMEt) in the shrimp, *Metapenaeus ensis*. *European Journal of Biochemistry* 269, 3587-3595.
- Hill, S.L., Murphy, E.J., Reid, K., Trathan, P.N., Constable, A.J. (2006) Modelling Southern Ocean ecosystems: krill, the food-web, and the impacts of harvesting. *Biol. Rev.* 81, 581-608.
- Hirano, Y., Matsuda, T. (2003) Antarctic krill breeding facilities at Port of Nagoya Public Aquarium. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 36, 249-258.
- Hosoi, M., Takeuchi, K., Sawada, H., Toyohara, H. (2005) Expression and functional analysis of mussel taurine transporter, as a key molecule in cellular osmoconforming. *Journal of Experimental Biology* 208, 4203-4211.
- Hosoi, M., Shinzato, C., Takagi, M., Hosoi-Tanabe, S., Sawada, H., Terazawa, E., Toyohara, H. (2007) Taurine transporter from giant Pacific oyster *Crassostrea gigas*: function and expression in response to hyper- and hypo-osmotic stress. *Fisheries Science* 73, 385-394.
- 井上広滋 (2005) 浸透圧的適応. 海洋生物の機能 (竹井祥郎編), 東海大学出版会 pp.18-35.
- Inoue, K., Russel, M.J., Olson, K.R., Takei, Y. (2003) C-type natriuretic peptide of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): primary structure and vasorelaxant activities. *General and Comparative Endocrinology* 130, 185-192.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (2007) Climate change 2007: Impacts, adaptation and vulnerability, Working group II Contribution to the Intergovernmental Panel on Climate Change Fourth Assessment Report, Summary for Policymakers. <http://www.ipcc.ch/SPM13apr07.pdf>
- Jacobs, S. S., Giulivi, C.F., Mele, P.A. (2002) Freshening of the Ross Sea during the late 20th century. *Science* 297, 386-389.
- King, R., Nicol, S., Cramp, P., Swadling, K.M. (2003) Krill maintenance and experimentation at the Australian Antarctic Division. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 36, 271-283.
- Meredith, M.P., King, J.C. (2005) Rapid climate change in the ocean west of Antarctic Peninsula during the second

- half of the 20th century. *Geophysical Research Letters* 32, L19604.
- Murphy, E.J., Watkins, J.L., Trathan, P.N., Reid, K., Meredith, M.P., Thorpe, S.E., Johnston, N.M., Clarke, A., Tarling, G.A., Collins, M.A., Forcada, J., Shreeve, R.S., Atkinson, A., Korb, R., Whitehouse, M.J., Ward, P., Rodhouse, P.G., Enderlein, P., Hirst, A.G., Martin, A.R., Hill, S.L., Staniland, I.J., Pond, D.W., Briggs, D.R., Cunningham, N.J., Fleming, A.H. (2007) Spatial and temporal operation of the Scotia Sea ecosystem: a review of large-scale links in a krill centered food web. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 362, 113-148.
- Newman, S.J., Nicol, S., Ritz, D., Marchant, H. (1999) Susceptibility of Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana) to ultraviolet radiation. *Polar Biology* 22, 50-55.
- Nicol, S. (2003) Living krill, zooplankton and experimental investigations: a discourse on the role of krill and their experimental study in marine ecology. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 36, 191-205.
- Nicol, S. (2006) Krill, currents, and sea ice: *Euphausia superba* and its changing environment. *BioScience* 56, 111-120.
- Siegel, V. (2005) Distribution and population dynamics of *Euphausia superba*: summary of recent findings. *Polar Biology* 29, 1-22.
- Velicogna, I., Wahr, J. (2006) Measurements of time-variable gravity show mass loss in Antarctica. *Science* 311, 1754-1756.

No. 0623

Studies on Adaptability of Antarctic Krill to Environmental Salinity Changes to Estimate the Influence of Global Warming

Koji Inoue

Ocean Research Institute, The University of Tokyo

Summary

Global warming, possibly caused by “greenhouse gases”, has been recognized as a serious problem because it causes melt of ice sheets in the polar region and resultant elevation of sea level. Moreover, melting of polar ice sheets, “the largest freshwater reservoir in the world”, will cause freshening of the seawater (SW), especially, in the Antarctic Sea, which has limited water exchange with oceans around. Thus, it is important to grasp the adaptability of each member of the ecosystem to salinity changes to estimate the impact of decreased salinity.

In this study, I attempted to examine the adaptability of Antarctic krill *Euphausia superba* to environmental salinity changes. Antarctic krill is known as a key species or a keystone species in the Antarctic ecosystem because it is the major feed of most animals at higher tropic levels. Antarctic krill may be exposed to freshened water directly because it complete the life history around the ice shelves. However, information is quite insufficient concerning tolerance to salinity changes in this species because it is difficult to maintain it in the laboratory.

Fortunately, an excellent system has been established to maintain a large number of krill in the laboratory tanks in Australian Government Antarctic Division (AAD). By collaboration with AAD staff, I could perform salinity challenge experiments. I exposed krill to diluted or concentrated (50 to 150%) SW, and monitored the survival. Although juveniles successfully adapted to 75% to 125% SW, most adults died or lost activity in 75% SW within 24 h. Thus, it was shown that adaptability to salinity decreases with growth. I also measured osmolality of the hemolymph of survived individuals and found that the hemolymph osmolality is almost the same as that of environmental seawater, i.e., this species is an “osmoconformer”. I also cloned cDNAs encoding the taurine transporter (TAUT) and farnesoic acid *O*-methyltransferase (FAMeT). Using information thus obtained, I will study the detail of osmoregulatory mechanisms in this important species in the Antarctic ecosystem.