


 解説

## ネムリユスリカの極限的な乾燥耐性とトレハロース

奥田 隆

(受取日：2005年11月10日，受理日：2006年1月4日)

### Trehalose: a Molecule Responsible for Desiccation Tolerance in the Sleeping Chironomid, *Polypedilum Vanderplanki*

Takashi Okuda

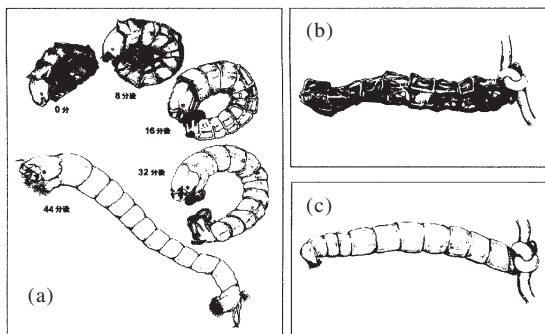
(Received November 10, 2005; Accepted January 1, 2006)

Life and death are mutually exclusive states. But some organisms showing no sign of living due to complete desiccation are nevertheless able to resume active life after rehydration. This peculiar biological state of organisms is referred to as cryptobiosis. Larvae of an insect species, the African chironomid *Polypedilum vanderplanki*, live in temporary rock pools in semi-arid areas and are able to achieve cryptobiosis. *P. vanderplanki* larvae accumulate trehalose to levels of about 20 % of their dry weight (40  $\mu\text{g}/\text{individual}$ ) upon cryptobiosis. Quickly desiccated larvae accumulated little trehalose and failed to recover after rehydration. A classical insect endocrine technique revealed that *P. vanderplanki* larvae without brain could synthesize trehalose and enter cryptobiosis successfully, in spite of the fact that the brain has a significant role in regulating both induction and termination of insect diapause. Tissues isolated from *P. vanderplanki* larvae could be preserved in a dry state at room temperature for 18 months in viable form. This confirms that central nervous system is not involved in cryptobiosis-induction, even in such a multicellular and rather complex organism, *P. vanderplanki*. Vitrification of trehalose seemed to be of significance for stabilizing cryptobiosis in *P. vanderplanki*.

#### 1. はじめに

ネムリユスリカ (英名: Sleeping Chironomid, 学名: *Polypedilum vanderplanki*) は、極限的な乾燥耐性を持つ唯一の昆虫種である。ネムリユスリカの幼虫は、体内の水分をほぼ完全に失ってカラカラに乾燥しても水に戻すと1時間ほどで何事もなかったように発育を再開する (Fig.1(a))。人間の場合、体重のわずか10~12%の脱水が起るだけで、血液の粘性が高まり、心臓の負担が増大して生命維持は困難に陥る。細胞レベルでは、我々の細胞も意外と乾燥に強く50%の脱水までは耐えるが、それ以上の脱水はタン

パク質などの生体成分や細胞膜の不可逆的な構造破壊をもたらし、細胞に致命傷を与える。ネムリユスリカの細胞は、含水量3%にまで脱水・乾燥してもタンパク質の変性は起らない。しかも一旦乾燥した組織、細胞、生体成分は、水を与えない限り、半永久的に安定的に保存される。<sup>1)</sup> ネムリユスリカ幼虫を乾燥させてから17年後に水に戻したら蘇生したという記録が残っている。<sup>2)</sup> ネムリユスリカ乾燥幼虫を真空容器 (0.1気圧) に3ヶ月間置いた後に水に戻したところ幼虫は蘇生した (未発表データ)。これらのことから、乾燥した幼虫の代謝は完全に停止しているものと推測される。身体からほぼ完全に水分を失っても、水に戻すと蘇生でき



**Fig.1** *Polypedilum vanderplanki* larvae during recovering from cryptobiosis. (a), a larva recovering from cryptobiosis at 0, 8, 16, 32 and 44 min after rehydration. (b), decapitated cryptobiotic larva. (c), decapitated larva on the 2nd day after rehydration. (Illustrated by M. Suenaga)

る生き物たちは、ネムリユスリカ以外にも存在する。120年前のコケの標本を水に戻したら、コケに付着していたワムシ（輪形動物門）、線虫（線形動物門）、クマムシ（緩歩動物門）などの微小な生物が動き出したという話は、すでにレーベンフックの時代の18世紀初頭から知られており、その後提唱される自然発生説の根拠となっている。1959年、ケンブリッジ大学のKeilinは、このミクロの生物たちの無代謝状態での活動休止現象をクリプトビオシス（Cryptobiosis）と呼び、低代謝状態の休眠（Dormancy, 広義の休眠）と区別して定義した。<sup>3)</sup> クリプトビオシスの現象は、300年も前から知られているにもかかわらず、そのメカニズムについてはよくわかっていない。また、ネムユスリカのクリプトビオシスについてもすでに50年前にイギリスの研究者、Hintonによって報告されているものの、<sup>4)</sup>その後、その生理的なメカニズムについて調べた者はいない。我々のグループは、2001年にネムリユスリカの室内継代飼育に成功したので、この究極的な乾燥に対する生存戦略、クリプトビオシスの分子機構の解明を始めた。

## 2. ネムリユスリカの極限的な乾燥耐性

ネムリユスリカの高い乾燥耐性能力は彼らが偶然獲得したものではない。幼虫は熱帯アフリカの半乾燥地帯の花崗岩の岩盤の窪みなどにできた小さな水たまりに生息する。1週間も雨が降らないと水たまりの水は干上がってしまう。我々が調査した生息場所は、雨季と乾季がはっきりしていて、8ヶ月におよぶ長い乾季の間、雨は一滴も降らない。長い灼熱の乾季の間、水たまりは干上がったままである。乾季に伴って水たまりに住む昆虫たちは次々に死んでいく。まず乾燥耐性を持たない吸血性の蚊の幼虫、ポウフラが干涸びて死ぬ。ヌカカの幼虫は厚いクチクラ層を皮膚に持つ

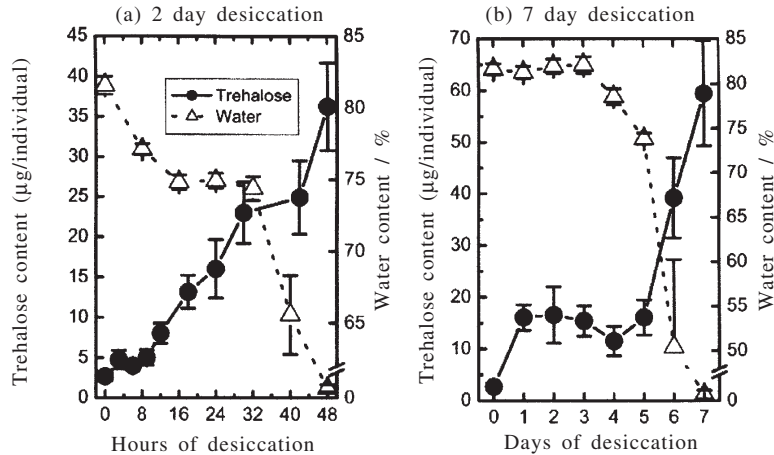
ことから乾燥に強いが、それでも3ヶ月以上乾季が続くと息絶える。ネムリユスリカ幼虫のみが、過酷な環境の中、クリプトビオシスの状態で次の雨季を待つことができる。さらに驚いたことに、ネムリユスリカ幼虫は、乾燥と蘇生を何度も繰り返すことができる。雨季の間でもしばらく雨が降らないと小さな水たまりの水は干上がってしまう。日常的に起る突然の日照りにも彼らは適応できるのである。

## 3. クリプトビオシスとトレハロース

クリプトビオシスに入った生物個体は、ほぼ完全に脱水しても $-196^{\circ}\text{C}$ （液体窒素）の極限温度下に置かれてもタンパク質などに不可逆的な凝集による変性は生じない。それは彼らが、水に代わって生体成分や細胞膜などを保護する物質、「適合溶質」を蓄積しているからである。甲殻類のプラインシュリンブ乾燥卵は、乾燥重量当たり14%のトレハロースと6%のグリセロールを、クリプトビオシス線虫も同様にトレハロースとグリセロールを合わせて約20%蓄積するが、種によってその含量比は異なる。クマムシでは、2.5~3%のトレハロースのみを合成・蓄積する。クリプトビオシスの植物版であり復活植物と呼ばれるイワヒバもトレハロースを高濃度で蓄積している。乾燥に強い高等植物は主にスクロースを適合溶質としている。トレハロースが生体成分を保護する物理化学的な機構については、現在二つの仮説が存在する。<sup>4)</sup>ひとつは水置換説で、完全脱水状態においてトレハロースは細胞膜やタンパク質の表面に直接水素結合し、結果的に結合水の代理をするというもの。もうひとつは、ガラス状態説で、トレハロースの水溶液が、脱水に伴い、流動性を失いガラス化し、細胞膜やタンパク質は、一種のミクロカプセルの中に閉じ込められる形になり、それらの高次構造はそのまま保護されるというものである。クリプトビオシスに入ったネムリユスリカの乾燥幼虫の粗抽出液を高速液体クロマトグラフィーで糖の分析をしたところ、トレハロースの大きなピークが検出された。

## 4. ネムリユスリカのクリプトビオシス誘導要因

ネムリユスリカ幼虫をガラスプレパラート上の1滴の水の中に入れ、急激に乾燥させると、幼虫は水に戻しても蘇生しない。一方、幼虫を48時間以上かけてゆっくり乾燥させるとすべての幼虫が蘇生した。後者のゆっくり乾燥させた幼虫の体内には、乾燥重量の20%に相当する大量のトレハロースが蓄積されていた（Fig.2）。一方、前者の急速に乾燥させた幼虫からはわずかなトレハロースしか検出されなかった。トレハロースは、体内に常時蓄積しているのではなく、乾燥ストレス誘導性である。すなわち幼虫が乾燥ストレスの刺激を受けてからトレハロースを大量に合成し始めるのである。そして幼虫がクリプトビオシスを成功さ



**Fig.2** Changes of fresh weight and trehalose content in *Polypedilum vanderplanki* larvae during desiccation for 2 (a) and 7 days (b). Closed circles, trehalose content; Open triangles, water loss.  $N=4\sim6$  each.

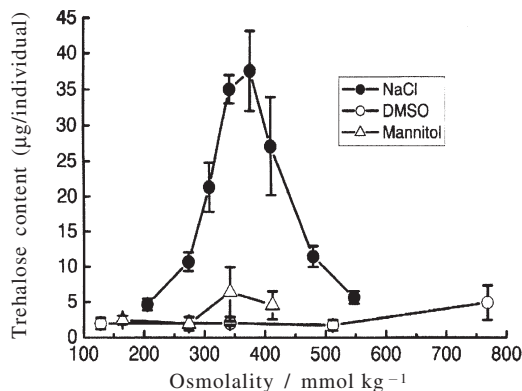
せるための生理的準備作業, すなわち生体成分保護物質であるトレハロースの十分な蓄積を終えるのに少なくとも48時間を必要とすることがわかった。<sup>5)</sup>

クリプトビオシスするクマムシが乾燥し始めると, タン(Tun, 樽)と呼ばれる形に収縮する。その格好はまるで丸まったアルマジロのようで, クチクラ層の薄い節間膜が内側に陥没し, 明らかに体内水分の損失を抑えている。実際, 麻酔して収縮できなくなったクマムシは, ふつうのクマムシの約1000倍の水分を急速に失う。その結果, 完全に乾燥するまでにトレハロースの十分な蓄積が果たせず, 麻酔したクマムシはすべて致死する。線虫も乾燥が進むと塊のように集まり, 塊の中央部にあるものは周辺部のものよりゆっくりと乾燥し, 乾燥に対して生き残る割合も高くなる。このように多くのクリプトビオシスをする生物は, 乾燥の際, 適合溶質の蓄積等の準備を完全脱水するまでに完了できるように, できるだけ乾燥速度を減速させる工夫をしている。<sup>6)</sup>

ネムリユスリカはクマムシのようなタン状態にはならないし, 線虫のように集団で乾燥することもない。しかし自然界では, ネムリユスリカ幼虫は水たまりの底に溜まったデトリタス等を材料に管状の巣(巣管)を作ってその中に潜んでいる。幼虫は, 巣の中で身体を揺すり(ユスリカの名前の由来), 巣管内に水流を起こし餌である有機物を巣の入り口で濾過摂食する。巣管の中で幼虫を乾燥させると, 急速乾燥にもかかわらず約6割の個体がクリプトビオシス誘導に成功した。巣管に保水作用があり, 幼虫は巣管内にいて脱水・乾燥速度が減少し, その間に十分量のトレハロースを合成・蓄積している事がわかった。<sup>7)</sup>

### 5. ネムリユスリカのトレハロース合成誘導要因

水たまりの水が干上がるにつれて水温, 塩濃度, pHなど生息環境に微妙な変化が生じているはずである。この変化からネムリユスリカ幼虫が水たまりが干上がることを事前に予測してクリプトビオシスの準備開始, すなわちトレハロース合成のスイッチを入れているという可能性が考えられた。しかし, 実験室内で, 蒸留水の中でネムリユスリカ幼虫を乾燥させても, 幼虫はトレハロースを合成・蓄積し, 無事クリプトビオシスに入っていた。また水温を上げてもトレハロース合成の誘導は認められなかった。そこで, 別の要因を探すために乾燥過程での幼虫の生体重とトレハロースの蓄積量の変化を詳細に調査した。そして, ふたつの興味深い事実が判明した (Fig.2)。① 幼虫を48時間あるいは1週間かけてゆっくり乾燥させるとすべての幼虫がトレハロースを十分量合成・蓄積し, 水にもどすと蘇生するが, 1週間かけてゆっくり乾燥させた場合でも, 48時間の場合と同様トレハロースの爆発的な合成・蓄積は, 幼虫が完全に乾燥する約1日半前から開始された。② 幼虫の身体の含水量が75%以下に下がった時点からトレハロースの急速な蓄積が始まることがわかった。<sup>8)</sup> このことから, 脱水に伴う生体内の塩イオン濃度の上昇, あるいはその結果生ずる浸透圧の上昇によって, トレハロース合成のスイッチが入るものと推察された。そこで, 乾燥処理をしなくても, 例えば塩イオンを外から投入し, 生体内塩イオン濃度あるいは浸透圧を上昇させることによって, トレハロース合成誘導が可能であろうと考えた。実際, 浸透圧の異なった溶液を, 塩化ナトリウム, DMSO, グリセロールで作り, ネムリユスリカ幼虫をそれぞれの溶液中で24時間泳がせた後, トレハロー

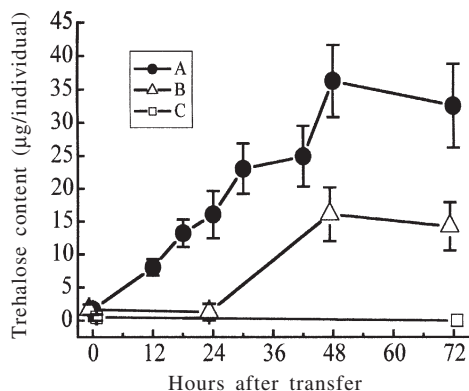


**Fig.3** Trehalose content of *P. vanderplanki* larvae incubated for 1 day in NaCl, mannitol and DMSO solutions at various osmolality. NaCl solution (1 %) shows osmolality of 342 mmol kg<sup>-1</sup>.

スの含有量を調べた。すると、塩化ナトリウムでのみトレハロースの蓄積が起り、特に1%塩化ナトリウム溶液は、乾燥処理と同様な規模での大量のトレハロース合成・蓄積を誘導した (Fig.3)。高浸透圧のDMSOおよびグリセロール溶液はトレハロース合成を刺激しなかった。従って浸透圧のような物理的な刺激ではなく、塩イオン濃度の変化による化学的な刺激によってトレハロース合成が誘導されるものと考えられた。<sup>8)</sup> ナトリウムイオンの方がカリウムイオンに比べてより強いトレハロース合成の誘導が認められた。ナトリウムはネムリユスリカの主な細胞外イオンであることから、乾燥による幼虫体液(血液)の濃縮に伴う細胞外イオン濃度の上昇がトレハロース合成誘導要因であろうと思われる。

### 6. ネムリユスリカのクリプトビオシス誘導制御機構

通常、昆虫の休眠(Diapauseという狭義の休眠)の誘導には、脳-内分泌器官-ホルモン、すなわち中枢神経を介した複雑な情報伝達系が関わっている。例えば越冬休眠を行う昆虫の場合、すでに秋頃に日長の変化を複眼や単眼を介して(あるいは脳が直接感受)脳で処理後、神経分泌ペプチドを介して内分泌器官にホルモン分泌の指令を伝達する。そのホルモンによってあるいはホルモンが分泌されなかったことによって冬の到来の情報が各組織に伝えられ、厳冬期を迎える前に休眠準備を開始する。ネムリユスリカのクリプトビオシスの場合はどうであろうか。カエルは雨が来ることを大気湿度の変化で予想できるようだが、水の中にいるネムリユスリカ幼虫が、雨が降らないことを予知している証拠を今のところ得ていない。そこで、ネムリユスリカのクリプトビオシスは中枢を介さないで誘導が起こっているとの仮説を立て、次のような実験を行った。脳を含む頭部と胸部の間を糸で縛り、頭部を除去する(開放



**Fig.4** Changes of trehalose level in *Polypedilum vanderplanki* larvae during desiccation. A: intact larvae (dry); B: decapitated larvae (dry); C: decapitated larvae (hydrated).

血管系を持ち、エラおよび皮膚呼吸をするので、頭部を失っても幼虫は、1ヶ月ほど生きている)。そして断頭した幼虫を乾燥条件に入れ、乾燥させる (Fig.1(b))。脳がなくてもトレハロースを十分量合成・蓄積し、再び水に戻すと、9割以上の幼虫が蘇生した (Fig.1(c))。<sup>5)</sup> このことは、中枢神経を持たない植物や単細胞生物のように、ユスリカ幼虫の個々の細胞および組織が乾燥ストレスに応答し、トレハロースの合成・蓄積等の準備を行なっていることを示唆している (Fig.4)。厳密に言えば、昆虫の中枢神経は、脳、胸部神経節、腹部神経節からなり身体中に分散している。上述の結紮実験によって、脳と胸部神経節がクリプトビオシス誘導に関与していないことは証明できたが、腹部神経節の関与の可能性を否定する事はできなかった。そこで、以下のような実験を行った。ネムリユスリカ幼虫から脳、胸部神経節、腹部神経節を含む中枢神経を完全に除いた後、残りの虫体組織を培養下に取り出し48時間かけてゆっくり培地の中で乾燥させた。組織をデシケーターで18ヶ月間保存した後、蒸留水を加え、特定の組織が蘇生する事を確認した。<sup>9)</sup> すべての幼虫組織がトレハロースの合成能を持つわけではない。脂肪体という脊椎動物の肝臓に相当する組織が大量にグリコーゲンを蓄積しており、とりわけトレハロースの合成活性が高い。現在、摘出した脂肪体のみ常温乾燥保存が可能である。しかし幼虫体内では、トレハロースを自身では合成できない組織、例えば筋肉組織や中腸組織も乾燥後、水に戻すと無事蘇生するわけだから、脂肪体が作ったトレハロースをうまく細胞内に取り込む機構(例えば糖輸送体を介した)が働いているに違いない。とりあえず摘出して中枢神経から切り離れた組織を培養下で完全に乾燥させた後、水に戻して生き返ったことから、ネムリユスリカのクリプトビオシスの誘導に中枢神経が関与して



いない事が実証された。このことは乾燥ストレスがシグナル応答系を介してトレハロース合成酵素遺伝子の発現などクリプトビオシス誘導に必要な遺伝子にスイッチを入れていることを示唆している。このストレス応答カスケードはバクテリアから人間に至るまでよく保存されていることから、ネムリユスリカ以外の生物に乾燥耐性クリプトビオシス能力を付加することが理論的には可能かもしれない。

## 7. クリプトビオシスとLEAタンパク質

2000年前の弥生時代の遺跡から発見されたモクレンの一種の種子が1994年に清楚な花を咲かせたというニュースが世界中に流れた。2000年のタイムスリップを実現させたこの種子休眠はクリプトビオシスの代表例のひとつと言ってもよいかもしれない。概して植物の種子は、乾燥に強い。種子が休眠に入っていく時、すなわち後期胚発生に水分を失う時期に大量に合成蓄積されるタンパク質が20年前に報告された。LEA (late embryogenesis abundant) タンパク質と命名され、やはり乾燥耐性のある花粉の中にも大量に蓄積されることから、乾燥耐性に関連したタンパク質と考えられている。このタンパク質は、高い親水性が特徴で、熱処理しても凝集しない。また、通常は構造を持たず、乾燥ストレスを与えると $\alpha$ -ヘリックスのコイル状に構造化する。乾燥ストレスがかかると構造を失う一般的なタンパク質とは逆の挙動を示すところが興味深い。2002年に、植物特異的なタンパク質と思われていたLEAタンパク質がクリプトビオシスする線虫、すなわち動物にも存在することがTunnaciffらによって報告された。<sup>10)</sup> 翌2003年、やはりクリプトビオシスするワムシでもLEAタンパク質が見つかった。彼らは、酵素タンパク質をトレハロースやLEAタンパク質に混ぜて熱処理あるいは乾燥処理した後、その酵素活性を測定したところ、トレハロースとLEAタンパク質を混合した区の方がトレハロースのみの区に比べて相乗的に高い酵素活性値を示した。<sup>11)</sup> クリプトビオシスをするワムシの中で、トレハロースを合成する酵素を持たない、すなわちトレハロースを適合溶質として利用していない種が見つかった。<sup>12)</sup> 彼らはトレハロースを貯めない代わりにLEAタンパク質を持っていることがクリプトビオシスする線虫のLEAタンパク質抗体を用いて確認された。ネムリユスリカ幼虫もクリプトビオシス誘導に伴ってLEAタンパク質遺伝子を発現していることを我々は確認している(投稿準備中)。クリプトビオシスする生物が脱水していく過程で、細胞内外に存在するタンパク質の濃縮が起こり、当然それらタンパク質の持つ疎水性アミノ酸残基同士が接触すれば不可逆的なタンパク質の凝集、すなわちタンパク質変性の危険性が高まっていく。クリプトビオシスする生物が大量にトレハロースやLEAタンパク質を合成するひとつの理由と

して、それらの高い親水性能力が発揮されて、脱水に伴って濃縮していくタンパク質の凝集、変性を阻止できるからと考えられる。LEAタンパク質はいくつかのグループに分類されているが、これまで動物で見つかったLEAタンパク質はすべてグループ3の特徴を持っている。

## 8. クリプトビオシスとトレハロースのガラス化

乾燥幼虫のトレハロースの含有量は乾燥重量当り20%に相当する。この大量のトレハロースがガラス化しているか否かについて調べるために以下のような実験を行った。48時間かけてゆっくり乾燥させた幼虫(これをSlowと呼ぶ)は、大量のトレハロースを蓄積し、水に戻すと100%蘇生する。一方、12時間で急速に乾燥した幼虫(これをQuickと呼ぶ)は、わずかなトレハロースしか蓄積せず、水に戻しても蘇生する個体は皆無である。これら蘇生率の異なる両サンプルを示差走査熱量計(differential scanning calorimeter, DSC)を用いて0~100℃の範囲で5℃min<sup>-1</sup>でスキャンし、ガラス転移温度(Tg)を測定したところ、蘇生不可能なQuickサンプルではガラス転移が確認されなかったが、蘇生可能なSlowサンプルでは明瞭なガラス転移挙動が観測された。ちなみに転移の開始点は56℃、転移中点は65℃、終了点は72℃であった(投稿準備中)。自然界では、ネムリユスリカが棲息する岩盤の表面温度は日中60℃以上にも達するが、乾燥幼虫のガラス転移温度の終了点はそれ以上であることからクリプトビオシスは問題なく維持されるであろう。トレハロースは糖類の中でもガラス化しやすく、ガラス転移温度が高いという性質を持つ。これが、ネムリユスリカが適合基質としてトレハロースを選択した理由の一つかもしれない。

## 9. 日本産ユスリカはなぜクリプトビオシスができない?

日本にも*Polypedium*属のユスリカ種が多くいる。彼らは、形態的にはネムリユスリカと似ているが、クリプトビオシスを必要としない生息環境にいるのだから当然クリプトビオシスはできない。同属のヤモンユスリカ(*Polypedium nubifer*)を用いて、どんな因子がクリプトビオシス誘導に重要なのかを探ることにした。まずトレハロースの前駆体であるグリコーゲンの体内蓄積量で両者に違いが認められた。乾燥前のネムリユスリカ幼虫は日本産ユスリカに比べて約3倍から4倍多くのグリコーゲンを蓄積していた。ネムリユスリカ幼虫は、突然水たまりが干上がった、すみやかにかつ大量にトレハロース合成ができるように体制を常備しているように思われた(未発表データ)。質的な違いも見られ、ヤモンユスリカ幼虫を乾燥条件に置いても、1%食塩水中で泳がせてもトレハロースの合成誘

導は起こらなかった。ほとんどの昆虫種の血糖はトレハロースであり、ヤモンユスリカもトレハロース合成酵素は備えている。今後も両ユスリカ種を比較することにより、クリプトビオシス誘導に必要な因子の探索を続けると共に、ネムリユスリカで単離した乾燥耐性関連遺伝子をヤモンユスリカに付加して乾燥耐性を高める試みも進めていく予定である。

## 10. ネムリユスリカの産業利用について

ネムリユスリカの産業利用について、すでに実現しつつある事業から将来的に期待される可能性について箇条書きで簡単に紹介してみたい。

① 理科教育の教材として：乾燥幼虫は1時間以内に蘇生するので、理科の実験や授業の時間内に容易に実演ができ、生命の不思議さを伝える生きた教材として期待されている。アフリカ原産種なので、生態系の攪乱に配慮し、放射線で不妊化した乾燥幼虫を教材として提供する準備を進めている。

② 乾燥保存が可能な観賞魚の生餌あるいは家畜・家禽の飼料として：多くのユスリカ幼虫は体液中に含まれるヘモグロビンによって赤い色をしており、俗にアカムシと呼ばれて、すでに観賞魚用の餌として利用されている。これまでの製品にないネムリユスリカ乾燥幼虫の長所は、室温でしかも長期保存しても脂質の酸化等による質の劣化が起きない、つまりより長期の有効期限が期待できること、しかも水に戻せば生き餌として利用ができることである。養殖魚のみならず家畜、家禽の餌としての可能性も検討している。ネムリユスリカ幼虫は水の浄化の時に発生する活性汚泥を餌として食べるので、環境問題の解決技術にも繋がるかもしれない。

③ 常温乾燥保存可能な培養細胞：ネムリユスリカのクリプトビオシス誘導に中枢神経が関与しないことが判明した。つまり、各組織細胞が独立して乾燥ストレスに应答して乾燥耐性を高める準備を行う。これまでに部分的ながら組織の長期常温乾燥保存に成功した（特許出願中）。現在、ネムリユスリカ胚子由来細胞株を用いた研究が進行中で、2009年までに乾燥保存可能な細胞株の構築をめざしている。これによって細胞株がドライアイスなしで普通郵便で国内外の研究室配送できるし、当然、この細胞株は乾燥耐性の分子メカニズムの解明研究に拍車をかけるものと期待される。

④ 宇宙生物学の実験材料：宇宙環境はまさに極限環境の一つと言える。ネムリユスリカ乾燥幼虫は極限温度や真空、高い放射線にも耐えうることから、国際宇宙ステーションなどでの宇宙生物学実験の生物材料としてすでに採択され、宇宙空間の暴露実験が現在進行中である。

⑤ 臓器の常温乾燥保存技術：米国のCroweらの研究グル

ープはヒト血小板の常温乾燥保存に成功し、2006年秋以降から臨床試験を開始するという。ヒト血小板を短時間加温処理することにより、エンドサイトーシスによるトレハロースの細胞内への取り込み過程を促進させることができたからである。<sup>13)</sup> 赤血球でも1週間の乾燥保存が可能という。しかし、有核細胞では未だ成功していない。やはり米国のLevineらのグループは大腸菌由来のトレハロース合成酵素遺伝子を人間の培養細胞に導入、発現させ、トレハロースを合成させた後、蘇生可能な状態で細胞を3日間乾燥保存する事に成功した。<sup>14)</sup> これは、トレハロースを利用することによって、3日間という短い間ではあるが人間の細胞が完全に脱水しながらも蘇生可能な状態で保存が可能であることを証明したことになる。さらに米国のTonerらのグループは、細胞に穴をあける機能を持ったタンパク質遺伝子( $\alpha$ -hemolysin)を導入してトレハロースを細胞に取り込ませ乾燥耐性を高める技術を開発した。<sup>15)</sup> これらのことから今後の常温乾燥保存技術開発の際の重要課題は、「トレハロースをいかに細胞内あるいは核内にうまく取り込ませるか」である。トレハロース代謝あるいは輸送に関わる乾燥耐性関連遺伝子がネムリユスリカから単離されつつあり、将来的には、これらの因子が人間を含む脊椎動物の細胞や臓器の常温乾燥保存法の開発にも大いに貢献するものと期待している。

⑥ 食肉などの常温乾燥保存技術：トレハロースには乾燥時にタンパク質や細胞膜の構造を保護する作用がある。例えば、乾燥ワカメや乾燥シイタケを水に戻したときに生々しい食感を保てるのは、彼らが自らトレハロースを合成蓄積していて、蘇生はしないまでも乾燥しても細胞をよりよい状態に保っているからである。海藻の海苔の場合、店頭で売られているものを塩水に戻すと実際増殖を始めるときいている（焼き海苔は不可のようです）。汐の満ち引きで、日常的に乾燥と吸水を繰り返すような環境で育つ海苔は、やはりトレハロースを適合溶質として利用し乾燥に適應している。トレハロースを利用することによって新たな食品保存法の開発が今後期待できると考えている。細胞や臓器の常温乾燥保存法と同様、いかに細胞内にトレハロースを取り込ませて乾燥させるかが重要なキーとなる。

## 11. おわりに

1年前の私の身体を構成している原子・分子は、今の私のと比べるとすっかり入れ替わっているものの、1年前の私は、明らかに私であった。よって私のアイデンティティーは「物質」にあるのではなく、「情報」にあると言える。生物が代謝を行うのは、自らを物質とエネルギーの流れの中に置く必要があるからだ。つまり生命体は熱平衡・化学平衡から遠く離れているから維持される。エントロピーの

増大を伴いながらもいつまでも組織だった低エントロピー状態を維持する「エネルギー散逸型」の構造体であることが生物の特徴であると言える。一方、机や建物などの「物質」は、エネルギーの散逸なしで維持される「平衡」構造体である。ネムリユスリカの乾燥幼虫は「散逸」構造体ではないので、「生命体」というよりも「物質」の状態にあると言える。しかしその「平衡」構造もひとたび水を与えられると1時間以内にエネルギー散逸型の構造体、すなわち「生命体」へと変身する。すなわちネムリユスリカは、「物質」でありながら「生命体」としての「情報」も持ち、更に「生命体」と「物質」の間を行ったり来たりできる能力を持った高等生物であると言える。「生命体」と「物質」の間を移動するとき重要な役割を担う分子のひとつがトレハロース、あるいはLEAタンパク質であることはまちがいない。

## 文 献

- 1) H. E. Hinton, *Nature* 188, 336 (1960).
- 2) S. Adams, *Antenna* 8, 58 (1985).
- 3) D. Keilin, *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 150, 149 (1959).
- 4) 櫻井 実, 井上義夫, 表面 34, 25 (1996).
- 5) M. Watanabe, T. Kikawada, N. Minagawa, N. Yukihiko, and T. Okuda, *J. Exp. Biol.* 205, 2799 (2002).
- 6) J. H. Crowe, and A. F. Cooper, *Sci. Am.* 225, 30 (1971).
- 7) T. Kikawada, N. Minakawa, M. Watanabe, and T. Okuda, *Integrative Com. Biol.* 45, 710 (2005)
- 8) M. Watanabe, T. Kikawada, and T. J. Okuda, *Exp. Biol.* 206, 2281 (2003).
- 9) M. Watanabe, T. Kikawada, A. Fujita, and T. Okuda, *J. Insect Physiol.* 51, 727 (2005).
- 10) J. Browne, A. Tunnacliffe, and A. Burnell, *Nature* 416, 38 (2002).
- 11) K. Goyal, L. J. Walton, and A. Tunnacliffe, *Biochem. J.* 388, 151 (2005).
- 12) J. Lapinski, and A. Tunnacliffe *FEBS* 553, 387 (2003).
- 13) W. F. Wolkers, N. J. Walker, F. Tablin, and J. H. Crowe, *Com. Biochem. Physiol.* 131A, 535 (2002).
- 14) N. Guo, I. Puhlev, D. R. Brown, J. Mansbridge, and F. Levine, *Nat. Biotechnol.* 18, 168 (2000).
- 15) A. Eroglu, M. J. Russo, R. Bieganski, A. Fowler, S. Cheley, H. Bayley, and M. Tonner, *Nature Biotechnol.* 18, 163 (2000).

## 要 旨

ネムリユスリカの幼虫はアフリカ半乾燥地帯の岩盤の窪みなどにできた小さな水たまりに生息する。乾季になり水たまりが干上がると、幼虫はカラカラに乾燥するが、次の雨で水たまりに再び水が張ると吸水して1時間以内に発育を再開する。実験室内で48時間以上かけてゆっくり乾燥させた幼虫は、水に戻すとすべてが蘇生したが、数時間で急速に乾燥させた幼虫は蘇生しなかった。前者のゆっくり乾燥させた幼虫の身体には、乾燥重量の20%に相当する大量のトレハロースが蓄積しており、さらにそれがガラス化していることがわかった。一方、後者の急速乾燥させた幼虫体内からはわずかなトレハロースしか検出されなかった。脳を除去したネムリユスリカ幼虫をゆっくり乾燥させた後に水に戻したところ、蘇生した。また、幼虫から摘出した組織を培養下で乾燥させ、水に戻したところトレハロース合成能を持つ脂肪体（脊椎動物の肝臓に相当）については蘇生した。このことからトレハロース合成を含む乾燥休眠の誘導に中枢神経が介さないことがわかった。



奥田 隆 Takashi Okuda  
 独立行政法人 農業生物資源研究所,  
 National Institute of Agrobiological  
 Sciences, TEL. 029-838-6157, FAX.  
 029-838-6110, e-mail: oku@affrc.go.jp  
 研究テーマ: 昆虫の高温下での休眠(熱  
 帯休眠, 夏期休眠)の生物学的研究  
 趣味: 多趣味。筆頭はガラクタ収集(あ  
 なたのガラクタは私のお宝, 捨てる前  
 にご一報を)