

## 生物基礎におけるホヤの教材化

Introduction of Ascidian as a Teaching Material into Basic Biology

生物科 内山正登

### <要旨>

ホヤ類は系統発生的に、最も脊椎動物に近い無脊椎動物として考えられている。現在の高校の教科書でホヤ類が取り上げられるのは、生物の「進化と系統」の单元だけである。しかし、無脊椎動物と脊椎動物をつなぐ進化的に重要な位置づけであることから、様々な单元においてホヤ類を取り上げ、教材とすることができると考えられる。そこで、生物基礎の「生物と遺伝子」「生物の体内環境の維持」「生物の多様性と生態系」の各单元において、ホヤ類に関するトピックを取り上げ、教材としてどのように授業の中で取り上げていくかを検討した。これからの生物教育においてホヤ類は、生物における共通性と多様性を論じる上で有用な生物であり、積極的に活用していくべきだと考えている。

<キーワード> ホヤ類 生物基礎 共通性 多様性 生物と遺伝子 生物の体内環境の維持  
生物の多様性と生態系

### 1 はじめに

ホヤ類は、発生分野を中心に生物科学研究のモデル生物として多くの研究者によって、研究されてきた。中でも日本は、ホヤ研究において様々な成果を出している(表1)。特に、ホヤのゲノム解読は日本の研究チームが主導して行われた研究であり、注目を浴びた。また、雌雄同体であるホヤの自家不和合性の基本原理が植物における自家不和合性の原理と類似していることも日本の研究グループによって明らかになった。

このように、日本を中心としてホヤ類の研究が盛んに行われているのは、ホヤ類が脊椎動物の要素だけを取り出したシンプルな存在であるためだと考えられる。

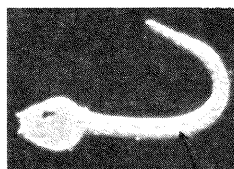
また、大学入試においても取り上げられてきた(大学入試センター試験平成26年度・平成20年度など)。しかし、高校生にとってホヤは、馴染みの薄い生物であり、認知度は低い。それは、ホヤ類に見られる様々な生物学的に興味深い現象についての理解が不足しているからである。そこで、本稿ではホヤ類の生命現象を生物基礎のカリキュラムの中でどのように取り上げ、生徒の興味・関心を引き出す教材となるかについて検討した。

### 2 ホヤとは

ホヤは、全世界の潮間帯から深海にまで生息する海洋無脊椎動物であり、種類によっては、養殖され食べられているものもある。

ホヤ類は脊索動物門尾索動物亜門ホヤ綱に属し、系統発生的に脊椎動物亜門に最も近い無脊椎動物と考えられている<sup>5)</sup>。これはホヤ幼生が尾を形成する際に、体の中心に脊索をもつからである(図1)。脊索は棒状の中軸器官であり、我々脊椎動物でも発生初期に存在し、やがて脊椎に置き換わる。

ホヤ類には、イタボヤ(*Botrylloides violaceus*) (図2)に代表される群体性のものと、カタユウレイボヤ(*Ciona intestinalis*) (図3)やマボヤ(*Halocynthia roretzi*) (図4)に代表される単体性のものがある。



脊索

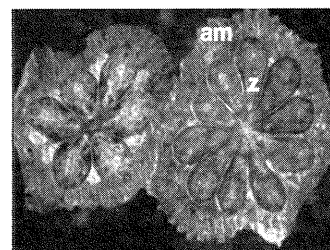


図2 イタボヤ

図1 ホヤの幼生



図3 カタユウレイボヤ



図4 マボヤ

表1 日本におけるホヤ類の研究の成果

年	研究内容
2001	マボヤ筋肉決定因子 macho-1 の同定 <sup>1)</sup> (大阪大学)
2003	カタユウレイボヤのゲノム解読 <sup>2)</sup> (京都大学)
2004	バナジウムホヤのバナジウム濃縮機構の分子メカニズムの解明 <sup>3)</sup> (広島大学)
2008	カタユウレイボヤの自家不和合性の分子メカニズムの解明 <sup>4)</sup> (名古屋大学)

### 3 生物基礎の各単元とホヤの取り扱い

2012年度より実施されている「生物基礎」では、これまでの「生物Ⅰ」「生物Ⅱ」と内容の配列が大きく異なり、「生物と遺伝子」「生物の体内環境の維持」「生物の多様性と生態系」から構成されている<sup>6)</sup>。ここでは、「生物基礎」のそれぞれの単元において、ホヤ類を教材として授業を展開できるかについて述べる。

#### 3-1 生物と遺伝子

「生物と遺伝子」の単元では、細胞のはたらきやDNAの構造と機能をもとに、生物の共通性と多様性について理解させることを目標としている<sup>6)</sup>。

##### 3-1-1 系統樹におけるホヤ類の位置

生物の共通性と多様性を知る上で、系統について理解することは非常に重要である。系統とは、生物の進化に基づく類縁関係であり、この系統をわかりやすく図に表したものが系統樹である(図5)。前述のように、ホヤは系統発生学的に脊索動物に分類されるが、カタユレイボヤやマボヤの写真を見るだけでは、脊索動物に分類できるようには見えない。しかし、オタマジャクシ幼生の図やオタマジャクシ幼生が泳ぐ姿を見ると、魚類に近い仲間であることが推定できる。従来、形態などをもとにして系統樹が描かれてきたが、近年では遺伝情報を比較することで、系統関係を明らかにすることができるようになった。この分子系統樹においても、ホヤ類は形態を基にして描かれた系統と同じ結果が得られたことは興味深い<sup>2)</sup>。

授業の中では、ホヤ類の写真と具体的な生物名が書かれていない系統樹を用意し、ホヤ類がどのように分類されるかについて生徒自身が考察することにより、形態の共通性と多様性についての理解につながると考えられる。

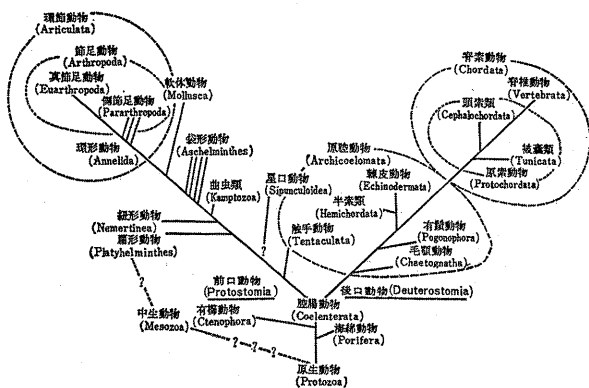


図5 形態・発生をもとにした系統樹 (内田 亭監修『動物分類名辞典』1972より 改変)

#### 3-1-2 ホヤ類のゲノム解読

2002年に佐藤矩行博士を中心とする京都大学のグループがカタユレイボヤのゲノム解読に成功し、公開した<sup>2)</sup>。このカタユレイボヤのゲノムの解読は、線虫、ショウジョウバエ、ヒト、フグ、マラリアカ、マウスに次ぐ動物では7番目であり、日本の研究者が中心となってゲノム解読が進められたため、新聞などにも多く取り上げられた。ゲノムの解読によって、ホヤのゲノムサイズは1億5500万塩基対であり、遺伝子は約16,000個存在することが明らかになった<sup>2)</sup>。ヒトやショウジョウバエの遺伝子数については、教科書に記述されているため(表2)、ゲノムサイズから生物の進化とゲノムサイズについて考えさせることができる。

表2 ゲノムが解読された生物

生物名	ゲノム (bp)	遺伝子数 (個)
大腸菌	約 500 万	約 4,500
酵母菌	約 1200 万	約 7,000
線虫	約 1 億	約 20,000
マラリアカ	約 2300 万	約 5,300
ショウジョウバエ	約 1 億 2000 万	約 14,000
フグ	約 4 億	約 20,000
マウス	約 27 億 3000 万	約 23,000
ヒト	約 30 億	約 22,000

また、現在ではマボヤやアカボヤ (*Halocynthia aurantium*) のゲノム解読も進んでおり、今後はホヤ類におけるゲノムの比較から生態に関する考察ができるようになると思われる。

#### 3-2 生物の体内環境の維持

「生物の体内環境の維持」の単元では、生物の体内環境について観察、実験などを通して探究することを目標としている。この単元では、体内環境・体内環境の維持の仕組み・免疫について扱うことになっている<sup>6)</sup>。ここでは、体内環境と免疫について理解する上でどのようにホヤを利用できるかについて述べる。

##### 3-2-1 開放血管系を有する動物としてのホヤ

体内環境を理解する上で、血液や血液循環について知ることは非常に重要である。脊椎動物では、血液は動脈から毛細血管を通り、静脈に流れ、心臓に戻る。このような毛細血管を通る循環系を閉鎖血管系と呼ぶ。閉鎖血管系を有するのは、ヒトを含めた脊椎動物やミミズなど環形動物である。これに対して、軟体動物や節足動物は、

毛細血管を有さない開放血管系である。ヒトの循環系も閉鎖血管系であるため、閉鎖血管系については理解しやすいが、開放血管系を理解するのは困難である。そこで、ホヤを用いることによって、具体的に開放血管系について理解することができると考えられる。ホヤは、入水孔から海水を取り入れて鰓のうに送り、そこで海水から酸素を取り入れて開放血管系にのせて体内に循環させている<sup>7)</sup>。

### 3-2-2 Contact Reaction の観察

生物の体内環境の維持では、実験や観察を通して免疫について理解させることを目標としている。しかし、免疫に関する実験は、準備や観察に時間がかかり、限られた時間の中で取り扱うことは困難である。そこで、簡単に自己 - 非自己認識の様子を観察できる実験としてマボヤ体腔細胞における Contact Reaction を取り上げる(資料)。

Contact Reaction は異個体由来のマボヤ体腔細胞を試験管内で接触させた際に、両者の体腔細胞が短時間で細胞崩壊を起こす現象である<sup>8)</sup>(図6)。この細胞崩壊にともなって、細胞凝集やフェノールオキシダーゼの活性が上昇する。Contact Reaction は、ホヤにおける生体防御反応の一種であると考えられ、短時間で細胞崩壊を起こすことから生物基礎の実験内容として適当である。

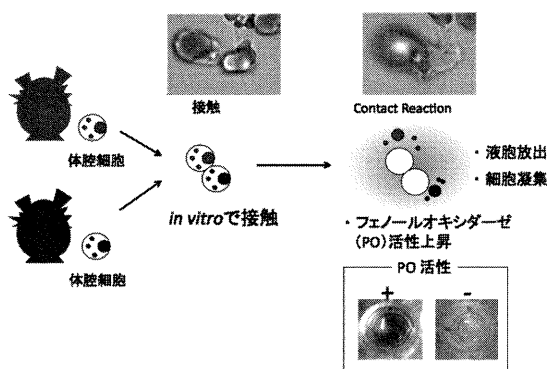


図6 Contact Reaction

Contact Reaction は全ての異個体の組合せで起こるわけではなく、約15%の確率でContact Reactionを起こさない組合せが存在することが報告されている<sup>8)</sup>。このことから、細胞の認識に自己と非自己の識別に関与する分子として脊椎動物のMHC様の分子の存在が予想される。

多細胞生物は、外来の異物を異種として認識し、排除する生体防御機構を有している。この「異種認識能」は、無脊椎動物から脊椎動物まで広く保存された機能である。

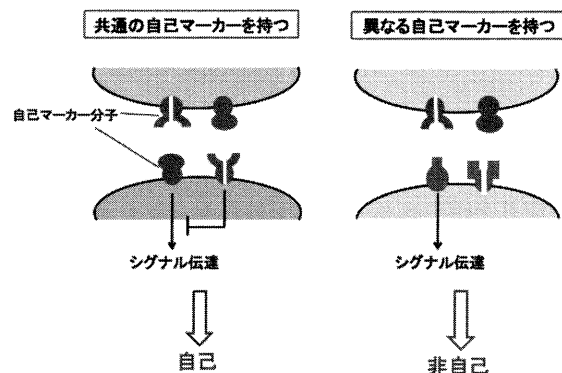


図7 Contact Reaction における自己 - 非自己認識

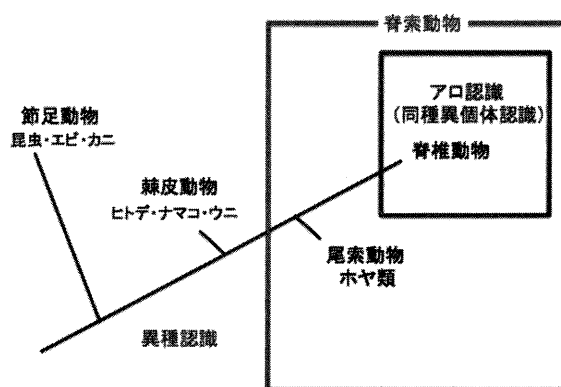


図8 自己 - 非自己認識の進化

「異種認識」に加えて、我々脊椎動物は同種内で異個体を認識する「同種異個体認識能」を進化の過程で獲得した(図8)。マボヤのContact Reactionは、無脊椎動物でありながら観察することのできる「同種異個体認識反応」であり、細胞における自己 - 非自己認識の進化について考察させることができる。Contact Reactionを授業内で行う際には、ダイダイソカイメンとムラサキソカイメンの細胞選別の実験を同時に行うことによって、より「自己 - 非自己認識」の進化について、理解を深めさせることができる。

最も原始的な動物である海綿動物である、ダイダイソカイメン (*Hymeniacidon sinapium*) とクロイソカイメン (*Halichondria okadai*) を細かくくだし、それぞれの細胞を混合すると、それぞれの種の細胞が接着する様子が観察できる<sup>9)</sup>。この結果は、カイメンが異種認識能を有していることを示している。

### 3-3 生物の多様性と生態系

「生物の多様性と生態系」の單元では、生物の多様性と生態系について探究し、生態系の成り立ちを理解させ

るとともに、生態系の保全について認識させることを目標としている<sup>6)</sup>。

### 3-3-1 生物濃縮とホヤ

教科書では、生態系の保全を理解させるために、生物濃縮が取り上げられる。生物が外界から取り込む物質の中には、分解や排出されないものが存在し、体内に蓄積することがある。このような物質を蓄積した生物を、食べ物として繰り返し取り込むことによって、上位の消費者では、さらに体内濃度が高くなる。このように、食物連鎖によって、特定の物質が環境中より高濃度で蓄積することを生物濃縮と呼んでいる。教科書の中では、殺虫剤である DDT や水俣病の原因となったメチル化水銀についてとりあげられている。生物濃縮については、汚染物質の濃度を薄めておけば、問題がないという議論がなされるが、この議論に反論する実験がホヤにおいて行われている(表3)。DDT を海水によって、薄めて 0.01 ppb ~ 100ppb に調製し、その中でホヤを飼育したときのホヤ体内の DDT 濃度を測定する実験である。

表3 ホヤにおける DDT の濃縮 (USDI, 1964)

水中濃度 (ppb)	ホヤ体内濃度 (ppm)	濃縮倍率 (倍)
100	20	200
10	10	1000
0.1	20	200000
0.01	10	1000000

表3から、海水中の DDT 濃度が低いほど、ホヤ体内の濃度が高くなっていることがわかる。この現象の詳しいメカニズムはわかっていないが、濃度が低い場合には、DDT による急性中毒は起こらず、長年にわたって濃縮されていくと考えられる。このように、分解しにくい物質が生態系に流れ出すと、たとえ非常に微量であったとしても、生態系に悪影響を及ぼすことがわかる。このような事例を通して、有害物質の排出が厳しく規制されていることについて説明することができる。

### 3-3-2 ホヤにおけるバナジウムの濃縮と人間生活

「生物の多様性と生態系」の単元では、生物の多様性と生態系に関する探究活動を行うことが明記されている。ここでは、生態系におけるホヤのレアメタル濃縮と人間生活を例として、探究活動を行うことが考えられる。

ホヤにおけるバナジウムの濃縮は、1900年代はじめにドイツ人科学者によって発見された<sup>10)</sup>。ホヤの一種

(*Phallusia mammillata*) では、血球に高濃度のバナジウムが含まれている。ホヤにおけるバナジウムの濃縮の生物学的な意味についてはわかっていないが、近年スジキレボヤ (*Ascidia sydneiensis*) のバナジウム濃縮機構について明らかになっていった。スジキレボヤの血球中には、バナジウム結合タンパク質 (Vanabin) が存在し、このタンパク質が、バナジウムの選択的濃縮に関与していることが明らかになった<sup>11)</sup>。

バナジウムは工業的に価値の高いレアメタルであり、鉄と混合することによって超伝導の材料や、触媒などに用いられる物質である。Vanabin を遺伝子組換えにより、大腸菌に発現させることによって、より高濃度にバナジウムを濃縮することも知られている<sup>11)</sup>。現在、ホヤによる金属濃縮機構を利用し、海水中からレアメタルを分種する技術開発が行われている。

このような、生物の生理機能と人間生活を連携させた技術の存在から、人間生活と他の生物の関わりについて学習させることができる。実際の授業では、ホヤを例として提示し、このような例を生徒に調べさせ、発表させるような探究活動が考えられる。

## 4 実験材料としてのホヤ

高校の生物授業における教材として、安価・入手が容易である・飼育が容易であることは非常に重要である。そこで、カタユウレイボヤとマボヤの入手方法と飼育方法について述べる。

### 4-1 ホヤの入手方法

カタユウレイボヤは、ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) によって、東京大学三崎臨海実所・京都大学・筑波大学から入手することができる (30匹 ~ 60匹で 3000円程度)。マボヤについては、東北大学大学院生命科学科付属浅虫海洋生物学教育センターから入手することができる (10kgあたり 1000円程度)。

### 4-2 ホヤの飼育

#### 4-2-1 カタユウレイボヤ

カタユウレイボヤは、水槽の静水系で飼育することが可能である。水温は 20℃前後に保つ必要がある。ホヤは、自然界で珪藻などを体内で濾過して摂取している。飼育するにあたっては、水槽内に珪藻などが無くならないような状況にしておく必要がある。また、1週間に1回程度海水を交換することによって、1ヶ月近く飼育することができる<sup>12)</sup>。

#### 4-2-2 マボヤ

カタユウレイボヤ同様に、静水系で飼育することができる。しかし、水温はカタユウレイボヤよりも低い12℃前後に保つ必要がある。マボヤは、カタユウレイボヤよりも1個体が大きいため密度を考慮しなければならない。マボヤが重なるように飼育すると、生存期間が短くなるため、個体をそれぞれ離して飼育する必要がある。

### 5 まとめ

上述のように、生物基礎で学習するすべての分野においてホヤを題材として話題を提供することができる。このように、生物学における全分野を通して、話題を提供できる生物は珍しい。しかし、現状では認知度の低さからホヤを題材として授業実践はあまり行われていない。また、生物の授業でも「生命現象と物質」「生殖と発生」「生物の環境応答」「生態と環境」「生物の進化と系統」のそれぞれの分野において、ホヤを取り上げることができる。今後、生物においてホヤを取り上げた授業実践を考えていきたい。

### 謝辞

本研究にご協力いただいた、慶應義塾大学工学部生命情報学科 松本緑准教授、東北大学大学院生命科学研究科附属浅虫海洋生物学研究センターの皆様には感謝致します。

### 参考文献

- 1) Nishida H, *et al.* macho-1 encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis., *Nature*, 409, 679-680 (2001)
- 2) Paramvir Dehal, *et al.* The draft genome of *Ciona intestinalis* : insights into chordate and vertebrate origins., *Science*, 298, 2157-2167 (2003)
- 3) Yamaguchi N, *et al.* Expressed sequence tag analysis of vanadocytes in a vanadium-rich ascidian, *Ascidia sydneiensis samea.*, *Mar. Biotechnol.*, 6, 165-174 (2004)
- 4) Harada, Y. et al., Mechanism of self-sterility in a hermaphroditic chordate, *Science*, 320, 548 (2008)
- 5) 巖佐庸 他編, 岩波生物学辞典, 岩波書店 (2013)
- 6) 高等学校学習指導要領解説理科編理数編 (2009)
- 7) 佐藤矩行 編, 『ホヤの生物学』, 東京大学出版会 (1998)
- 8) Fuke, M. "Contact Reaction" between xenogenic or allogenic coelomic cells of solitary ascidians, *Bio.Bull.*, 158, 304-315 (1980)
- 9) H.V.Wilson, On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges, *The Journal of Experimental Zoology*, 2, 245-258 (1907)
- 10) Henze. M, Untersuchungen uber das Blut der Ascidian, Hoppe Seyler's *Z. Physiol.Chem*, 72:494 (1912)
- 11) T.Ueki, *etal.* Characterization of vanadium-binding sites of the vanadium-binding protein Vanabin2 by site-directed mutagenesis., *Biochem Biophys Acta*, 1790, 1327-1333 (2009)
- 12) 日下部岳広 他 著, 『身近な動物を使った実験 〈1〉ホヤ・メダカ・ゼブラフィッシュ・キンギョ・カエル』, 三共出版 (2009)

## 1 年生物基礎

## 実習 自己-非自己認識反応の観察

【目的】 ㊦ カイメンの細胞凝集反応とマボヤの Contact Reaction を観察することによって、自己-非自己認識反応の進化について理解する。 自己評価 (A・B・C)

## 【実験方法】

実験Ⅰ カイメンの細胞凝集反応の観察

1. ダイダイソカイメン (*Halichondria japonica*) とクロイソカイメン (*Halichondria okadae*) を細かくくだき、布地に包みそれぞれのカイメンの細胞をピーカーにしぼり出す。
2. 細胞のしぼり汁を3個の時計皿に分けて入れる。このとき、以下のA)～C)の3種類のサンプルを用意する。
  - A) ダイダイソカイメンのしぼり汁のみ
  - B) クロイソカイメンのしぼり汁のみ
  - C) クロイソカイメンとダイダイソカイメンのしぼり汁を両方混ぜたもの
3. A)～C)のサンプルを、スライドガラス上にたらし、カバーガラスをかけて観察する。それぞれのサンプルの様子をスケッチする。

実験Ⅱ マボヤの Contact Reaction の観察

1. マボヤを1匹とり、全体の形を観察する。
 

【課題1】大きさを測定し、スケッチ内に書き込む。
2. それぞれの個体から、体腔液をとりだし、ナイルブルーおよびニュートラルレッドで染色したものがマイクロチューブの中に入っている。それぞれのマイクロチューブから液体を少量スライドガラス上にたらし、カバーガラスをかけて観察する。
 

※取り出すときは、それぞれ違うピペットを使うこと。

【課題2】2個体の体腔細胞が接触したものをスケッチする。

## 【結果】

- ① 【実験Ⅰ】のA)～C)のそれぞれの様子をスケッチする。
- ② 【実験Ⅱ】の【課題1】をケント紙にスケッチをする。
- ③ 【実験Ⅱ】の【課題2】をケント紙にスケッチをする。

## 【考察】

- ① 自然界では、マボヤの体腔細胞が別個体の体内で接触することはほとんどない。それにも関わらず、マボヤの体腔細胞がCRのような現象を起こす理由を、生物の生体防御機構をもとに考えなさい。
- ② 自己-非自己認識に着目し、系統樹もとに自己-非自己認識の進化について説明しなさい。

※ このプリントを表紙として、結果・考察をまとめて提出。スケッチは必ず貼ること。

1 年 \_\_\_\_\_ 組 \_\_\_\_\_ 番 \_\_\_\_\_ 名前 \_\_\_\_\_