

シロウリガイ共生系における共生組織（エラ）特異的に発現するム

チン様物質

○中村欽光（海洋研究開発機構）、本郷悠貴（海洋研究開発機構・東京海洋大）、小西正朗、大石和恵（海洋研究開発機構）、多米晃裕（マリンワークジャパン）、中澤正年（横浜市立大）、藤島政博（山口大）、藤倉克則、丸山正、吉田尊雄（海洋研究開発機構）

深海底の熱水噴出域、湧水域は化学合成生態系が存在し海洋生態系の一角をなしている。これらの生態系を構成する生物は、化学合成細菌の生産する有機物によって支えられており、その多くは体内・外に化学合成共生細菌を共生させている。(Dover, 2000, Fisher, 1990)

シマイシロウリガイは日本周辺の熱水噴出域、湧水域の化学合成生態系を代表する深海性二枚貝で、エラ細胞内共生細菌の全ゲノム塩基配列が決定されていることから (Kuwahara et al., 2007)、化学合成共生生物の、細胞内共生進化研究、細胞内共生機構解明に適したモデル生物の一つである。共生細菌の全ゲノム塩基配列の解析により、共生細菌と宿主は緊密な相互作用によって成り立っており、直接的あるいは間接的な物質のやり取りが硫黄代謝経路、カルビン回路の存在から示唆されている。さらにゲノムサイズが極端に縮小しており、通常の細菌では生育に必須ないくつかの重要な遺伝子が欠損していることから、宿主が共生細菌の生育を調節している可能性は大きい (Kuwahara et al., 2007)。しかしながら宿主生体内において、ゲノム情報から推測される代謝系に関連した酵素以外の共生関連物質やそれらの機能が共生の維持、調節に関与しているか否かは明らかになっていない。

そこで我々は、EST 解析などの遺伝子発現解析から直接的な情報が得られにくいシマイシロウリガイのタンパク質以外の共生関連分子の同定を目的に、エラの全タンパク質を対象とするモノクローナル抗体ライブラリーの作成と、抗体を用いた共生関連高分子の検出法を確立し、共生関連分子を同定することを試みた。約 500 種類のエラ組織内抗原に対する抗体産生ハイブリドーマの作成し、複合抗体ライブラリーを得ることができた。得られた複合抗体ライブラリーから共生組織特異的に局在する抗原に対する抗体を免疫組織化学的手法によりスクリーニングし、抗原の特徴を蛍光免疫染色、ウェスタンブロット法によって解析した。その結果、エラ組織特異的に局在し、かつ大量に発現する抗原が同定された。これらの抗体により、共生関連分子はエラ組織内の共生細菌を保持する細胞内に局在し、かつ表面に露出あるいは分泌されている高分子であることが推測された。そこで、エラ組織表面に存在する粘液成分を精製した多糖画分を用いたドットブロット法ならびに、エラ組織細胞抽出液を用いたウェスタンブロット法により、共生関連分子がムチン様糖タンパク質の性質であることが示唆された。これらの結果から、得られた共生関連高分子は、1) エラ組織特異的に局在すること、2) 特にエラ組織の共生細菌を保持する細胞に局在すること、3) 細胞の外に多く局在することから共生に必要な分子であり、外部環境との応答に関連する可能性が示唆された

このムチン様糖タンパクは大量に発現していると思われるが、これまでの EST 解析などの遺伝子発現量からの解析では検出されていなかった。このような共生に関連する分子が、今回のモノクローナル抗体を用いた解析により同定できたことは、抗体を用いた解析法が共生関連分子を探索する上で有効な手法であることを示している。