

超深海性ヨコエビが保有する多糖分解酵素の遺伝子解析

○小林英城（海洋研究開発機構）、荒井渉・高見秀人（海洋研究開発機構）、笹川 洋平・梅田 茉奈・林 哲太郎・二階堂 愛（理化学研究所）

【緒言】 マリアナ海溝チャレンジャー海淵の世界最深部を始めとして、深度 8,000 m 以深の海底には、超深海性ヨコエビが生息している。我々はマリアナ海溝チャレンジャー海淵に生息するカイコウオオソコエビが多糖分解酵素を持ち、海底に沈降した植物片を栄養源にしていることを明らかにした(1)。また、伊豆小笠原海溝深部由来の超深海性ヨコエビもセルラーゼを始め、多くの多糖分解酵素を持っていた。超深海性ヨコエビにとって多糖分解酵素は重要な消化酵素であることが考えられる。一方、カイコウオオソコエビは共生微生物の存在が確認されず、シロアリに代表される腸内共生微生物由来のセルラーゼによる木材分解とは、異なっていた。したがって、これら超深海性ヨコエビが持つ多糖分解酵素は、ヨコエビ自身が生産していると予想された。そこで、多糖分解酵素遺伝子を解析することで、個々の多糖分解酵素の性質や由来が明らかにすることを本研究の目的とした。

【実験方法】 2013年、研究船「かいらい」のKR13-10行動にて、伊豆小笠原海溝深部にベイトトラップを装着した係留系を投下し、約16時間後に回収した。その結果、100個体以上の超深海性ヨコエビが捕獲できた。採取した超深海性ヨコエビから RNeasy Lipid tissue kit (QIAGEN, Germany)を用いて、全RNAを抽出した。抽出したRNAについて、HiSeq3000 (illumina 社)を用いて塩基配列を決定した。決定したRNA塩基配列から多糖分解酵素遺伝子をBlast 検索にて抽出した。なお、各酵素候補遺伝子はE value $<10^{-50}$ を基準とした。

【結果】 RNAシーケンスから、アミラーゼ候補遺伝子、セルラーゼ候補遺伝子、 β 1, 4 グルカナーゼ候補遺伝子を各2本ずつ抽出できた。ヨコエビが活性を示したキシラナーゼやマンナーゼの遺伝子は検出できなかった。アミラーゼ遺伝子は甲殻類の膵臓 α -アミラーゼと相同性が認められた。セルラーゼ遺伝子は Glycoside Hydrolases (GH) ファミリー7に分類されるセルラーゼに分類された。さらに、 β 1, 4 グルカナーゼは、GH ファミリー9 に分類される酵素だった。

【考察】 超深海性ヨコエビが生産するアミラーゼは、一般的な甲殻類の消化酵素と高い相同性を示した。一方、セルラーゼは、海岸で流木に穴を穿つキクイムシのセロビオヒドラーゼと相同性が認められた。しかしながら、超深海性ヨコエビが生産するセルラーゼは、糖鎖の非還元末端から分解するが、GH7のセロビオヒドラーゼは還元末端から分解すると定義されており、新しいGHファミリーに分類される可能性がある。また本セルラーゼはGH7において、甲殻類以外では樹木に寄生する担子菌類（キノコ類）が生産するセロビオヒドラーゼと相同性が認められた。木材に寄生する担子菌のセルラーゼは、現在バイオエタノール生産のためのセルロースの糖化反応に利用されていることから、本酵素も工学的利用が期待できる。 β 1, 4 グルカナーゼはGH9に分類され、他の甲殻類のゲノムシーケンス等からも検出されている遺伝子と相同性が認められているものの、実際の酵素活性が測定されていないため、どのような酵素か、不明である。

【引用文献】

1. H. Kobayashi et. al. PLoS ONE. 2012; 7: e42727.