

環形動物門マシコヒゲムシ (*Oligobrachia mashikoi*) の体前・体中部における EST 解析

岡田アキ

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学環日本海域環境研究センター, 臨海実験施設

A. OKADA

Expressed Sequence Tag analysis in the head body and middle body of the beard worm, *Oligobrachia mashikoi*
(Annelida)

石川県能登半島九十九湾に生息するマシコヒゲムシは、発生の過程で退化した消化管に相当する部位に、化学合成細菌を共生させているバクテリオサイトと呼ばれる細胞と、共生細菌が合成した炭水化物を貯える栄養貯蔵細胞とから成る栄養体という器官を持ち、栄養体に共生するイオウ酸化細菌が合成する炭水化物を栄養源として生きている。これまでヒゲムシでは、組織学的・形態学的研究が中心に行われてきたが、近年、マシコヒゲムシの持つ細胞外巨大ヘモグロビンの立体構造が明らかにされるなど、生化学的研究も進んできた。さらに、分子生物学的手法を用いて分類も行われている。本研究では、遺伝子の網羅的な機能解析において有効な手段である、Expressed Sequence Tags 解析 (EST 解析) により、発現しているタンパク質の特徴や塩基配列から推測される遺伝子の情報を明らかにすることを試みた。

解析試料は、ヒゲムシの最も特徴的な器官でもある“ヒゲ”や心臓など、生存に重要な役割を担っていると予想される器官が多く存在する体前・体中部より得て、total RNA から mRNA を精製後、それを鋳型とした cDNA クローンを作製し、BLASTx による相同性検索を行った。本研究では、少なくとも 30% 以上相同な部分配列を持ち、且つ E-value = e^{-05} 以下のものを、相同性有りという基準とした。

その結果、579 クローン中 40.5% のクローンで機能性タンパク質が、12.6% のクローンでリボソームタンパク質が、9.9% のクローンでチトクローム関連タンパク質をコードするアミノ酸配列が見出された。また、38.2% のクローンが機能や構造がまだ明らかになっていないタンパク質として分類された。最も多く認められた配列はリボソームタンパク質に相同的な配列で、環形動物は勿論のこと、原始的な脊索動物であるナメクジウオの 40S リボソームタンパク S18 とも高い相同性を示し、ムカデ [節足動物門・ムカデ綱] の持つ翻訳開始因子 γ サブユニットとも高い相同性を示した。したがって、DNA から mRNA の転写・翻訳に至る、生物の生存にとって非常に根本的なプロセスに関するタンパク質は、系統学的な位置を超えて広く、高い相同性を持って保存されているということが示された。次いで多く見つかった配列はチトクローム関連タンパク質に相同的な配列で、その約 70% がヒゲムシの一種である *Galathealinum brachiosum* のチトクローム酸化酵素サブユニット I・II・III と、平均して 71.2% という高い相同性を示した。また、エネルギー生産に関わるタンパク質では、ミミズ [環形動物門・貧毛綱] の持つ ATP 合成酵素 F0 サブユニット 6 とも高い相同性を示したが、*G. brachiosum* のチトクローム関連タンパク質と比較するとその相同性は 10% 程度落ち、還元的な生活環境という状況が関係しているか否かは不明であるが、近縁の種間でより高度にその配列は保存されていた。また、マシコヒゲムシの生存において重要な役割を担う酸素結合・運搬関連のタンパク質と相同性のある配列は、全クロンの約 1.8% を占め、海棲無脊椎動物の中でも特に Siboglinidae に属するガラパゴスハオリムシ及び *G. brachiosum* の間で高度に保存された、重要なタンパク質であるということが改めて確認された。更に、細胞骨格・運動を支持するタンパク質と相同性のある配列も全体の約 1.7% を占め、全ての生理現象に細胞空間的に関与する重要なタンパク質であるというだけでなく、本種の場合には特に、このタンパク

質に，将来共生細菌の生活場所の提供の意味を見出すことが出来れば興味深い．

現時点では，ヒゲムシが属する環形動物門に関する分子生物学的データが少ないことが解析の限界となっているが，定期的にデータベースで検索を行うことによって，マシコヒゲムシの発現遺伝子に関する情報を少しでも蓄積していくことが今後の課題である．

(本研究は，金沢大学大学院自然科学研究科 生物科学専攻 岡田アキ君の修士論文の一環として行われた)