

Construction of the cDNA library from the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Pogonophora) and its sequence analysis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/42947

有鬚動物マシコヒゲムシのcDNAライブラリーの作製とその配列解析

榎本 洸

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学自然計測応用研究センター, 臨海実験施設

Hiroshi Enomoto: Construction of the cDNA library from the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Pogonophora) and its sequence analysis

ヒゲムシは、口も消化管も肛門も退化しており、共生細菌によってエネルギーを得ている。また、元来が深海の低温で高圧に棲む動物のため、通常の細胞膜成分では、その流動性は失われる。しかしながら、ヒゲムシは脂質代謝系を不飽和脂肪酸が多く産生されるように変化させ、細胞膜の流動性を確保している。また光に対して鈍感である。これらの事実は、この動物の消化器系・生理代謝系・光受容系には、かなりの変形が起きていることを示唆している。一方、共生細菌はイオウを酸化してエネルギーを得るため、硫化水素を要求する。しかしながら、硫化水素は宿主にとって猛毒であるため、硫化水素を結合させて無毒化し、しかも酸素も当然、結合させることができる特殊なヘモグロビンを作り出している。ヒゲムシは、環形動物のゴカイに似た動物を先祖に持つと言われており、最近の分子生物学的証拠も、この説を支持している。しかしながら、ヒゲムシは過去より現在までの進化の間に、退化と特殊化の過程を経て、通常の高産無脊椎動物とはかなり異なった生理をつくり出したと考えられる。

本研究においては、マシコヒゲムシの生理の基礎となる発現蛋白にどのような特徴が認められるかを調べる基礎として、cDNAライブラリーを作製し、得られた塩基配列をBLASTにより検索した。ヒゲムシは、共生細菌が存在する栄養体部分と存在しない非栄養体部分に分けて、別々にmRNAの発現を調べた。まずtotal RNAを抽出しoligo dTをプライマーにして逆転写してcDNAとした。それにNotI/EcoRIアダプターを結合させて、pUC19プラスミドに組み込んだ。それを大腸菌に感染させ、形質転換した大腸菌をX-galにより選別した。pUC19の2ヶ所の塩基配列から2種のプライマーを作製し増幅させて、シーケンスした。その結果、栄養体部分からは現在までに約300クローンを読むことができた。そのうち最も発現が多かったのは、ヘモグロビンサブユニットであり、その数は約80クローンにも上がった。これは栄養体ではmRNAの約25%はヘモグロビンmRNAであることを示しており、ヒゲムシにおいてヘモグロビンが生命の維持にいかに重要かが明らかである。18Sや28SなどのリボソームRNAの配列も20クローン以上見つかったが、これは本来の発現量が極めて多いためであろう。今後、精査を要するが、原始的な紐状の軟体動物であるカセミミズの28S rRNAに相同性の高いrRNAや、原索動物のナメクジウオのリボソーム蛋白をコードする配列と相同性が高い配列も知られた。これらの結果は、ヒゲムシの祖先が環形動物であり、環形動物は軟体動物と類縁性があること、またヒゲムシは、一時、脊索動物と関係があると思われたこと等、ヒゲムシの系統学的位置を考えると興味深い。またミトコンドリアにあるチトクロームCオキシダーズのサブユニットも多く存在した。この理由は、現在、不明である。一方、非栄養体の部分を約80クローン読んだ時点では、ヘモグロビンのサブユニットは見つからず、28S rRNAが多く認められた。この結果は、ヘモグロビンの産生部位がどこにあるかを示唆しているのかもしれない。また、非栄養体部分には生殖巣など、重要な器官があり、今後の解析が待たれる。

(本研究は、金沢大学理学部生物学科 榎本 洸君の卒業論文の一環として行われた)