

有鬚動物門マシコヒゲムシの栄養体の形態生理学的研究

出口真理子

〒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

Mariko Deguchi: Morpho-physiological study of the trophosome in the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Pogonophora)

有鬚動物門マシコヒゲムシ (*Oligobrachia mashikoi*) の栄養体には、共生細菌を細胞質に持つバクテリオサイトと呼ばれる細胞が存在する。宿主が生きるためには、また共生細菌が分裂・増殖するためには、このバクテリオサイトが栄養体の中で、実際にどのような三次元的配置になっているのかは、極めて重要な問題である。本研究においては、研究Iとして、これを明らかにすべく、一般染色による光学顕微鏡観察、電子顕微鏡による観察に加えて、共生細菌の16S rDNAの塩基配列に基づいてRNAプローブを作製し、ホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。

その結果、一般染色で顆粒をもった細胞と空胞をもった細胞が細胞索をつくり、腹側血管の両側から背側血管の両側へと互いに絡み合っている像が注目された。電子顕微鏡による観察では、その顆粒はバクテリオサイトのリソゾームであり、空胞は栄養貯蔵細胞の脂肪滴の痕跡であることが確認された。*in situ* ハイブリダイゼーションの結果、バクテリオサイトの細胞群は不規則な葉状を呈し、腹側血管の両側から背側血管の両側に伸長していることが明らかになった。この形態は以下の理由で物質の交換に有利であると推察された。栄養体は中心部に内腔液が詰まった内腔をもち、その周囲にはバクテリオサイトと栄養貯蔵細胞が存在し、栄養体には背側血管と腹側血管に血液が流れ、さらに栄養体は体腔液が入った体腔の中にある。虫体が伸縮を繰り返すと、バクテリオサイト周囲には、液体成分が流れ、その複雑な形態とあいまって、表面積が増大し、物質の交換はスムーズに進行すると思われる。

一方、栄養体には、中性脂肪が大量に蓄積されており、それがヒトで言えば高脂血症に相当するほど血流に出てくること、また毛細血管が発達していることから、ヒゲムシでは血栓ができやすいのではないかと推察されるが、実際にそのような現象は認められない。これらの事実は、本種には特異な血栓溶解酵素があることを示唆している。したがって、本研究においては、研究IIとして、それをコードする塩基配列をPCRにより増幅することを試みた。

ヒゲムシと系統的に近いとされているミミズでは、これまで13種の血栓溶解酵素が同定され、それらのN末端のアミノ酸の配列が明らかにされている。その一部の酵素では、全長にわたってcDNAがとられている。従って、まずN末端アミノ酸の配列から11種類の5'-プライマーを設計し、3'RACE法によりPCRを行った。さらに増幅産物を鋳型にしてnested PCRを試みた。一方、これまでにミミズで見つかっている酵素はトリプシンなどセリンプロテアーゼ系の酵素であり、一次構造で200番目前後の11種類のアミノ酸の配列は極めて保存性が高い。従って、本研究においては、その配列に基づいてさらに3種類の5'-末プライマーを作製し、3'-末のユニバーサルプライマーとの間でPCRを行った。現在、7個の増幅産物を得て、それらすべてをダイレクトシーケンスした。しかしながら、未だ目的の増幅産物を得ていない。PCR条件を検討しながら、さらに研究を進めている。

(本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科生命・地球学専攻 出口真理子君の修士論文の一環として行われた)