

# マガキ体表面粘液の細菌に対するサーフェスバリアとしての機能の検討

岡田勇希（東北大学大学院農学研究科）

## 1. マガキ体表面粘液および生体防御因子リゾチームの分泌様式の決定

体表面粘液は、海水中に存在する細菌などの異物と最初に出会う部分であり、生体防御機構の早い段階で重要な役割を担うと考えられる。本研究では、最初に高い溶菌活性を有し、主要な液性防御因子となっているリゾチームのマガキ体表面粘液および外套膜における分泌様式を調べた。外套膜組織切片を作成し、HE染色を行った結果、外套縁膜および上鰓腔の上皮層においてエオシン好性の粘液細胞の層が存在した。この部位からリゾチームが分泌されることを想定し、次にリゾチームペプチド抗体による免疫染色を行ったところ、この粘液細胞同士の間隙に存在する別の細胞にリゾチームのシグナルが強く検出された。これらのことから、マガキリゾチームは外套膜および上鰓腔の上皮細胞のうち粘液細胞とは別の分泌細胞に局在しており、細胞外に分泌されて粘液と混ざり軟体部を覆っていると考えられた。そこで、外套膜と体表面粘液を分離してそれぞれのリゾチーム活性を測定した結果、どちらにも活性が検出された。特に粘液の比活性が外套膜に比べ非常に高かったことから、リゾチームは外套膜から体表面へ分泌され、粘液に保持されていると考えられた。そして、体表面粘液に多く存在することで有効な溶菌活性を示し、細菌防除に重要な役割を果たしていると考えられた。本研究の一部について2011年9月に開催された第4回国際かきシンポジウム(IOS4, Tasmania, Australia)で口頭発表を行った。

## 2. 抗真菌酵素キチナーゼの粘液中での活性測定、組み換えタンパクの合成と機能解析

真菌の細胞壁に作用して抗菌的な活性を示す酵素にキチナーゼがある。本研究では、リゾチーム活性とともに外套膜抽出液のキチナーゼの活性を測定した結果、十分な活性が検出された。活性の季節的な変動や至適pHなどは、リゾチーム活性のものとは一致せず、キチナーゼは特有の挙動を示すと考えられた。遺伝子を検出する手法であるRT-PCRおよび*in situ hybridization*において、外套膜上皮におけるキチナーゼ遺伝子の発現が確認され、キチナーゼは外套膜で産生され、体表面粘液に分泌されていると推測された。さらに、マガキキチナーゼの機能を詳しく調べるために大腸菌を用いた組換えタンパクを合成した。キチナーゼの完全長cDNAを合成し、コンピテントセルを形質転換して発現誘導をかけリコンビナントキチナーゼを合成し、キチナーゼとしての活性を示すことを確認した。今後はこの組換えタンパクを用いてさらなる機能解析を行い、生体防御因子としてのキチナーゼの有効性を明らかにするつもりである。

## 3. 第4回国際かきシンポジウム (IOS4) への参加

上にも記した通り、IOS4において、“Multiple mantle lysozymes in the Pacific oyster serve important role for host-defense under broader environmental conditions”という題目で口頭発表を行った。IOS4への参加によって、最新のカキ研究について学び、海外の研究者との交流・養殖場の見学など貴重な体験を得ることができた。