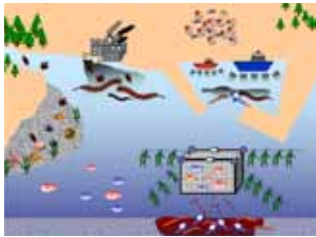


伊藤克敏¹・野崎真奈²・國弘忠生³・三浦 猛²

¹(独)水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所, ²愛媛大学南予水産研究センター, ³愛媛大学沿岸環境科学研究センター

背景



海洋環境中で汚染物質の多くは、底質に沈降・堆積している。特に沿岸域の底質汚染は、水産物の安心・安全性確保にとって由々しき問題であり、底質に蓄積された汚染物質の削減を図ることは喫緊の課題である。このような現状のもと、近年、環境汚染問題の解決策として、生物の分解能を利用した環境浄化、いわゆる**バイオレメディエーション技術**が自然に付加をかけない技術として注目されている。**ゴカイ類**は他の底生生物と比較して汚染物質に対する耐性が高く、汚染物質を代謝し環境を浄化する能力を持つ。さらに物理的に底質を攪拌し溶存酸素量を増加させることで底質浄化に貢献している。これらのことからゴカイ類は、沿岸海洋生態系の保全において重要な役割を担っているものと考えられる。しかしながら、ゴカイ類が持つ環境浄化機能には未だ未解明な点が多いのが現状である。



そこで、本研究では、ゴカイを用いた効率の良いバイオレメディエーション技術を確立するため、生息域の異なる2種類のゴカイ類の物質代謝機構を解析し、ゴカイ類が有する海洋底質浄化機能の解明を目的とした。

方法

試験対象種

《養殖場》

イトゴカイ *Capitella* sp.

体長: 15~20mm

汚泥指標種



有機汚泥の浄化が試みられ、溶存酸素量を上昇させるなどの有効性が確認されている。

《河口域》

スナインゴカイ *P. nuntia brevicirris*

体長: 100mm

徳島川河口で優占種



方法

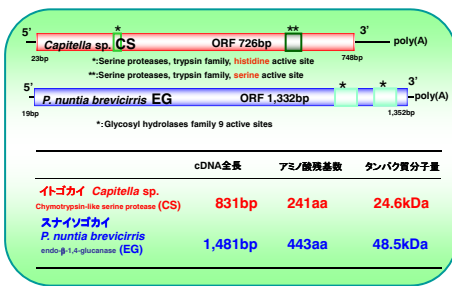
対象酵素

プロテアーゼ・・・タンパク質を分解
セルラーゼ・・・セルロースを分解

- 酵素活性測定
比色定量法・ザイモグラフィ
- 遺伝子のクローニング
RT-PCR法
- 遺伝子発現部位の組織学的解析
in situ ハイブリダイゼーション法

結果 - 2

・・・分子生物学的解析



《イトゴカイ *Capitella* sp. Chymotrypsin-like serine protease (cCS)》

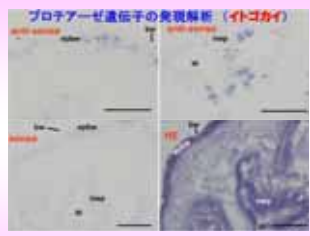
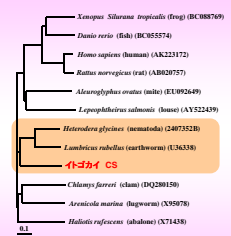


図. イトゴカイからクローニングしたプロテアーゼの分類

イトゴカイのプロテアーゼ遺伝子は腸管及び体表の上皮細胞で発現

《スナインゴカイ *P. nuntia brevicirris* endo-β-1,4-glucanase (pnbEG)》

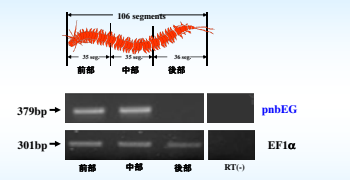
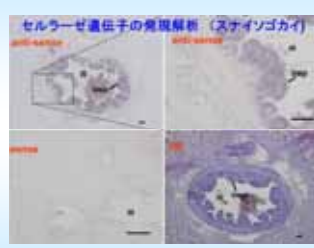
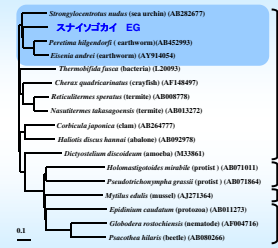


図. スナインゴカイからクローニングしたセルラーゼの分類

スナインゴカイのセルラーゼ遺伝子は腸管の上皮細胞で特異的に発現

セルラーゼ遺伝子は体の前部、中部で発現し、後部では発現していない。

結果 - 1

・・・生化学的解析

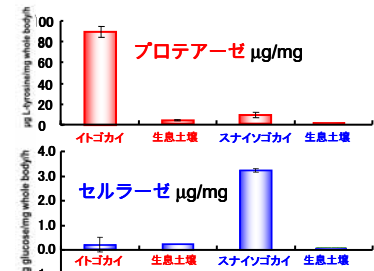


図. イトゴカイ、スナインゴカイ及び生息土壌のプロテアーゼ活性及びセルラーゼ活性

- イトゴカイのプロテアーゼ活性(89.7µg/mg)はスナインゴカイ(8.0µg/mg)の10倍
- セルラーゼ活性は、イトゴカイに比べ、スナインゴカイ(3.2 µg/mg)で有意に高い活性を示し、さらに生息土壌の200倍

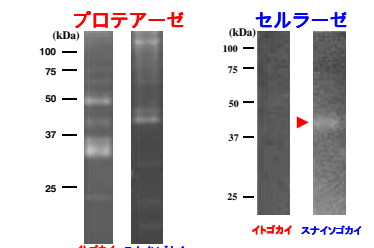
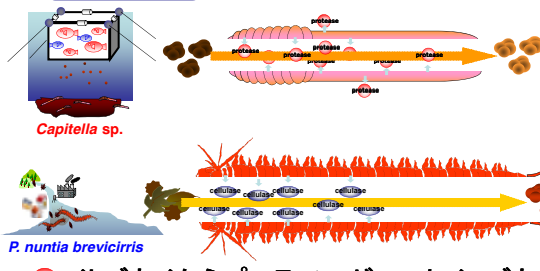


図. イトゴカイ及びスナインゴカイのプロテアーゼ活性及びセルラーゼ活性のザイモグラフィ

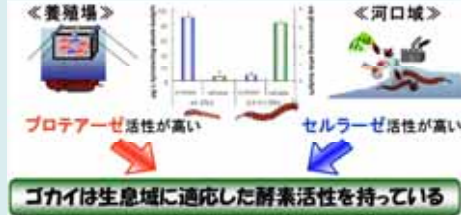
- イトゴカイ及びスナインゴカイ共にプロテアーゼ活性を示す複数のバンドを検出
- セルラーゼ活性を示すバンドはスナインゴカイの45 kDa付近のみに検出(赤矢印)

まとめ



- 残餌や養殖魚の排泄物由来のタンパク質が蓄積する養殖場下に生息するイトゴカイはプロテアーゼ活性が高い
- 陸上起源の植物系有機物が蓄積する河口域に生息するスナインゴカイは、セルラーゼ活性が高い

イトゴカイからプロテアーゼ、スナインゴカイからセルラーゼと遺伝子を得たことから、**ゴカイ自身が酵素を産生!!**



- ゴカイ類は生息域に適応した酵素活性を保持している。
- ゴカイ自身も酵素を分泌することにより、環境浄化に積極的に貢献している。

ゴカイ類は沿岸海洋生態系の保全において重要な役割を担い、汚染された海洋底泥の**バイオレメディエーション技術**に応用する生物種として非常に適した生物種である。