

ゾウリムシの大核特異的抗原の性質

田中 健也, 藤島 政博 (山口大・院理工・環境共生系)

Characteristics of macronucleus-specific antigens of *Paramecium caudatum*

Kenya TANAKA and Masahiro FUJISHIMA

(Dep. of Env. Sci. and Eng, Grad. Sch. of Sci and Eng, Yamaguchi Univ.)

SUMMARY

Eight monoclonal antibodies specific for macronuclear proteins of the ciliate *Paramecium caudatum* were developed, and molecular weight of the antigens, cross-reactivity of the antibodies and timing of appearance of the antigens during nuclear differentiation were elucidated. The properties of these antigens were compared with characteristics of a presumed receptor substance on the macronuclear envelope for lipopolysaccharides of the outer membrane of the infectious form of *Holospora obtusa*. One of the eight antigens shows characteristics similar to those of the receptor substance. Indirect immunofluorescence microscopy shows that the antigen locates near the macronuclear envelope and appears in the macronuclear anlagen after the appearance of heterochromatic aggregates during the nuclear differentiation process. The molecular weight of the antigen is 30 kDa. Cross-reactivity of the antibody shows that the epitopes are present not only in strains of *P. caudatum*, but also in *P. jenningsi*, *P. multimicronucleatum*, *P. tetraurelia*, *P. putrinum*, *P. calkinsi*, *P. polycaryum* and *P. nephridiatum*.

【目的】 グラム陰性細菌 *Holospora obtusa* は、繊毛虫 *Paramecium caudatum* の大核に特異的に共生する核内共生細菌である。 *H. obtusa* は、宿主の生理状態に適応してその形態を増殖型と感染型に分化させる。感染型は、長さが約13 μm で宿主の飢餓状態を引き金に

して増殖型から分化し、細胞質、ペリプラズム、侵入先端の3つの領域から構成される。感染型は、増殖能力はないが、宿主食胞を經由して細胞質に侵入し、宿主の2種の核膜を識別して大核に侵入する能力を持つ。

これまでの研究で、感染型の細胞外膜にあるリボ多糖が、宿主大核膜上にあるリセプター物質（分子量、30 kDa）と結合し、*H. obtusa*が大核と小核を識別することが明らかにされた（Kawai and Fujishima 2000）。しかし、このリセプター物質は、まだ精製されていない。そして、*H. obtusa*は、ゾウリムシの大核原基内にクロマチン顆粒が出現すると大核原基に感染することから、この時期には*H. obtusa*の識別する標的核膜特異的物質が存在することが示唆された（Fujishima and Görtz, 1983）。また、*H. obtusa*は、*P. caudatum*以外に*P. tetraurelia*, *P. multimicronucleatum*, *P. jenningsi*の大核に感染することが報告されている（Fujisima and Fujita, 1985）。

この研究では、今回得られた8種の大核特異的モノクローナル抗体を用いて、抗原の分子量、交叉反応性の種特異性、核分化過程での抗原の出現時期を調べ、*H. obtusa*が識別する大核膜特異的物質の特徴と比較した。

[材料と方法] *P. caudatum* 株Rb-1s58a2（接合型E⁴）の単離核をBALB/cマウスに注射し。モノクローナル抗体を作成した。さらに、9種のParamecium (*P. caudatum* 株Rb-1s58a2, *P. jenningsi* 株30998, 30999, *P. multimicronucleatum* 株TH103, *P. tetraurelia* 株 stock51, *P. putrinum* 株 OM4, SW2, *P. bursaria* 株Yad1w, *P. calkinsi* 株GN5-3, *P. polycaryum* 株YnA, *P. nephridiatum* 株 Rw-1)と4株のTetrahymena (*T. pyriformis* W, *T. thermophila* cu378, wildIII, wildIV)を使って抗原決定基の種特異性を間接蛍光抗体法とイムノプロットで調べた。

接合過程における抗原の出現時期は、相補的接合型株（株Knz2, 接合型E³, 株Knz5414, 接合型O³）を用いて、間接蛍光抗体法で調べた。接合過程におけるステージの分類は、藤島（1988）の分類にしたがって行った。

[結果と考察] 8つの抗体（mAb MA-17, mAb MA-18, mAb MA-19, mAb MA-20, mAb MA-21, mAb MA-22, mAb MA-25, mAb MA-26）を用いた間接蛍光抗体法による蛍光顕微鏡像は、全て抗原が大核特異的に局在することを示した。

核分化過程では、*H. obtusa*は大核原基内にクロマチン顆粒が出現すると大核原基に感染でき、この時期にMA-17, MA-18, MA-19, MA-22抗原が出現した。そして、*H. obtusa*が大核に感染可能な*P. caudatum*, *P. jenningsi* (30998), *P. multimicronucleatum*, *P. tetraurelia*ではMA-22抗原決定基が、間接蛍光抗体法によって大核で検出された。また、*H. obtusa*の細胞外膜のリボ多糖が、核を構成する分子量30 kDaの物質と結合することが明らかにされているが、MA-22抗原の分子量は30 kDaを示した。mAb MA-22を用いた間接蛍光抗体法の蛍光顕微鏡像をAxio vision 4.5で画像処理した結果、核膜付近に強い蛍光を検出した。

これらの結果はmAb MA-22が*H. obtusa*の識別する標的核膜特異的物質を認識している可能性を示唆している。しかし、mAb MA-22を用いた間接蛍光抗体法では、*H. obtusa*が大核に感染できない*P. jenningsi* (30999), *P. putrinum*, *P. calkinsi*, *P. polycaryum*, *P. nephridiatum*の大核で蛍光が検出され、イムノプロットでは約30 kDaでバンドが検出されたため、標的核膜特異的抗原決定基ではないことが明らかになった。

[文献]

- Fujishima, M. and Görtz, HD. (1983) J. Cell Sci., 64: 137-146.
 Fujishima, M. and Fujita, M. (1985) J. Cell Sci., 76: 179-187.
 藤島政博. 第6章 遺伝的な実験法, 原生動物を用いた実験法(重中義信 編), 共立出版, pp. 191-226, 1988.