

ユーグレナ類鞭毛虫ペラネマ (*Peranema trichophorum*) における IP39 類似タンパク質の存在

竹内 喬平¹, 末友 靖隆², 洲崎 敏伸¹ (¹神戸大・院理・生物, ²岩国市立ミクロ生物館)

Presence of IP39 homologous proteins in the euglenoid flagellate *Peranema trichophorum*

Kyohei TAKEUCHI¹, Yasutaka SUETOMO² and Toshinobu SUZAKI¹
(¹Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ. and ²Iwakuni City Microlife Museum)

SUMMARY

The plasma membrane of *Euglena gracilis* possesses an elaborate array of intra-membrane proteins, IP39, which are implicated in the mechanism of euglenoid cell-shape changes. Transmission electron microscopic observation of the predatory euglenoid flagellate *Peranema trichophorum* showed that *P. trichophorum* has a pellicular structure resembling that of *E. gracilis*, consisting of interlocking pellicular strips and associated microtubules. In *P. trichophorum*, the number of microtubules in each pellicular unit is 7–9. An extensive network of endoplasmic reticulum is the most prominent feature of the cell cortex, distinguishing it from *E. gracilis*. Immunoblot analysis using anti-peptide antibodies against IP-39 of *E. gracilis* revealed the existence of polypeptide components in *P. trichophorum* that are recognized by the anti-IP39 antibodies. The PCR analysis using primers specific to *E. gracilis* IP39 amplified DNA fragments of three sizes that are similar to the 0.65 kb DNA fragment from *E. gracilis* IP39 gene. These results suggest the existence of proteins in *P. trichophorum* that are homologous to IP39 of *E. gracilis*.

【目的】 IP39 は *Euglena gracilis* の原形質膜内に緻密に存在するタンパク質で、ユーグレナ運動に関わっている可能性があると考えられている。ユーグレナ運動はユーグレナ類鞭毛虫の多くに共通な細胞の変形運動であるが、IP39 と運動の関係についての研究は今まで *Euglena gracilis* に対してのみ行われてきた。そこで今回、*Euglena gracilis* より原始的と考えられている捕食性のユーグレナ類 *Peranema trichophorum* の原形質膜に IP39 類似タンパク質が発現し、ユーグレナ運動に関与している可能性について検証した。

【方法】 実験に用いた *P. trichophorum* は、Carolina Biological Supply Co. (USA) より入手した。細胞は、市販の牛乳と、餌の *Chlorogonium capillatum* とを用いて、150 ml フラスコで 3 週間無菌的に培養した¹⁾。本研究ではまず、*E. gracilis* と *P. trichophorum* の細胞表層を透過型電子顕微鏡で観察し、比較した。次に、*E. gracilis* と *P. trichophorum* の全細胞に対する抗 IP39 抗体を用いたウェスタンブロットの結果を比較した。最後に、IP39 遺伝子特異的プライマーを用いた全ゲノムに対する PCR を *E. gracilis* と *P. trichophorum* で行い、結果を比較した。

【結果と考察】 *P. trichophorum* の細胞表層を透過型電子顕微鏡で観察したところ、*E. gracilis* の細胞表層と比べて *P. trichophorum* では表皮帯直下の微小管の数が 7~9 本と *E. gracilis* (4~5 本) より多く、表皮帯

1 枚 1 枚の幅も約 1.5 倍広いことがわかった。また、*E. gracilis* の小胞体が表皮帯ごとに独立しており、隣り合う表層ユニットの小胞体は、お互いに接触していないのに対して、*P. trichophorum* では小胞体が非常に発達し、しかも各表層ユニットの領域を超えて連続し、大きな小胞体のネットワークが形成されていた。一方、表皮帯同士が 2 本の微小管の仲介によって組み合わせられている様子や、表皮帯の直下には小胞体と微小管が配置するという基本的な構成は同じであり、表層構造全体としては非常に良く似ていた。

ユーグレナ運動を行う *P. trichophorum* が *E. gracilis* と良く似た細胞表層構造を持っていることから、*P. trichophorum* の細胞膜にも IP39 に類似したタンパク質が存在し、ユーグレナ運動に関わっている可能性が考えられた。そこで、*P. trichophorum* の全細胞に対して *E. gracilis* の IP39 に対する抗ペプチド抗体を用いたウェスタンブロットを行った。その結果、*P. trichophorum* にも抗 IP39 抗体が結合するポリペプチドが存在することが分かった。

次に、*P. trichophorum* にも IP39 類似遺伝子が存在している可能性を検証する目的で、*P. trichophorum* のゲノム DNA に対して IP39 遺伝子特異的プライマーを用いた PCR を行った。すると、*E. gracilis* の PCR 産物では、増幅されるバンドは、IP39 の二種の分子種 (α -IP39 と β -IP39) の遺伝子から増幅された混合物のバンドが 1 本しか確認できないのに対して *P. trichophorum* では 3 本のバンドが増幅されること

がわかった。これらの結果から、*P. trichophorum* にも IP39 類似タンパク質が存在している可能性が示された。

[文献]

- 1) 吉見、洲崎 (2009) *Peranema trichophorum* におけるマステイゴネマの単離と構成タンパク質の分析. 原生動物学雑誌, 42, 75-76.