

ミドリゾウリムシ共生クロレラを包む PV の α -glucosidase 活性

熊野 吾郎, 洲崎 敏伸
(神戸大学・院理・生物)

α -Glucosidase activity of perialgal vacuoles in the ciliate *Paramecium bursaria*

Gorou KUMANO and Toshinobu SUZAKI
(Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

Paramecium bursaria has several hundred symbiotic *Chlorella*, each of which is enveloped in a peri-algal vacuole (PV) membrane. Symbiotic *Chlorella* is known to secrete soluble carbohydrates (mainly maltose) into PV before the host uses them in its cytoplasm. Total α -glucosidase (maltase) activity of symbiotic (*Chlorella*-containing) *P. bursaria* was determined by measuring the release of glucose from maltose. It was found to be ca. 30% higher than that of aposymbiotic (*Chlorella*-free) paramecia. The increase was attributed mainly to an increase of maltase activity of the host's cytoplasm because isolated PV possessed only ca. 3% of the total maltase activity. This result suggests that maltose is transported across the PV membrane before it is used in the host's cytoplasm.

【目的】 繊毛虫ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) は、その細胞内に数百個のクロレラを共生させている。クロレラはひとつずつがミドリゾウリムシの食胞に由来する小胞 (Perialgal vacuole: PV) 中に包まれており¹⁾、この PV 膜が共生の確立、維持

に重要な役割を果たしていると考えられる。またクロレラにも共生による性質の変化が見られ、自由生活クロレラが 0.4-7.6% しかマルトースまたはグルコースを分泌しないのに対し、共生クロレラは最高 86.7% ものマルトースを細胞外に分泌する²⁾。動物に

おいては、通常マルトースは小腸粘膜上皮細胞の膜上に存在するマルターゼにより加水分解され、吸収が行われる。ミドリゾウリムシにおいてはクロレラから分泌されたマルトースの分解吸収に関する詳しい機構がわかっておらず、PV膜上あるいはPV内に存在するマルターゼにより分解後PV膜を通した輸送が行われている可能性が考えられた。そこで本研究では、単離したPV膜のマルトース分解活性を調べ、マルトースのPV膜通り抜けについて検討を行った。

[材料と方法] *Chlorogonium* を用いた無菌二者培養法で大量培養したミドリゾウリムシを洗浄・濃縮し、3 µg/ml のリゾチーム溶液を加えてトリコシストを放出させた。平岡の方法³⁾に従いPV膜を単離し、PV膜、ミドリゾウリムシの破碎後懸濁液、破碎後に 300 g × 3 min 遠心した時の核や大型オルガネラの沈澱、PV膜剥離後のクロレラを得た。先に挙げた4つのサンプルと、共生藻を保持したミドリゾウリムシ (Green *P. bursaria*: GPB)、共生藻を持たないミドリゾウリムシ (White *P. bursaria*: WPB) を超音波破碎したものの6種類について 50 µl ずつ2本分注し、一方には 10 mg/ml のマルトース溶液を 10 µl、もう一方には蒸留水を 10 µl 加え3時間室温にて静置した。その後 Cayman Chemical 社の Glucose Assay Kit によってグルコース濃度を測定し、マルトースを加えたものと加えていないものの濃度差をマルトース分解によるグルコースの増加とみなしマルターゼ活性の強弱を比較した。

[結果と考察] GPB と WPB は細胞密度を合わせ、マ

ルターゼ活性を比較した。その結果 GPB で約 30% のマルターゼ活性の上昇が見られた。これは、ミドリゾウリムシがクロレラを保持することでマルターゼの発現量を変化させている可能性を示している。PV膜単離過程で得られる画分は、破碎した細胞懸濁液は 5 ml、破碎後の沈澱は 120 µl といったように細胞全体に対してグルコース濃度測定に用いるサンプルの割合が異なっている。そのためマルターゼの濃度が細胞全体を使った時の濃度になるよう補正を行った。グルコースの増加量について whole cell を 100% とすると、核と大型のオルガネラを含む画分で 7.5%、クロレラで 1%、PV膜では 3.3% しか増加しなかった。つまりミドリゾウリムシに含まれるマルターゼはその 90% 近くが細胞質に局在していることがわかった。このことは、クロレラを共生させることによるマルターゼ活性の上昇は、主にミドリゾウリムシの細胞質中のマルターゼ活性の上昇に由来することを示唆している。PV膜のマルトース分解能は低く、このことはクロレラが分泌したマルトースは分解されることなくPV膜を通り抜け、宿主の細胞質内で利用されていると考えられる。今後はマルターゼの宿主細胞内における局在と、PV膜上に存在する可能性のある糖輸送体などについて細胞生物学的手法を用いて解析を進める。

[文献]

- 1) Karakashian et al. (1968) J. Protozool., 15, 113-128.
- 2) Muscatine et al. (1967) Comp. Biochem. Physiol., 20, 1-12.
- 3) Hiraoka et al. (2008) Jpn. J. Protozool., 41, 93-94.