

ウミガメ類肝臓の微量元素蓄積に関与するメタロチオネインの役割およびその異性体のクローニング

阿南弥寿美・金 恩英・國頭 恭・岩田久人・田辺信介
愛媛大学沿岸環境科学研究センター

ウミガメ類は他の海棲高等動物に比べ、肝臓に Cu や Ag などいくつかの元素を高濃度で蓄積していることが知られている。メタロチオネイン(MT)は毒性元素の解毒や必須元素の恒常性維持に関与していることから、ウミガメ類に高濃度蓄積した微量元素の毒性影響を評価するには、MT の役割を理解することが重要である。これまでの研究によると、哺乳類や魚類にはアミノ酸配列の異なる MT 異性体が存在するが、爬虫類の情報は乏しく、遺伝子レベルで異性体の存在を調べた例もない。本研究では、2 種のウミガメ類、アオウミガメ(*Chelonia mydas*)およびタイマイ(*Eretmochelys imbricata*)について微量元素蓄積に関与する MT の役割の解明を目的とした。さらに、MT 異性体の存在の確認、および各異性体の cDNA 塩基配列の決定も試みた。遠心分離およびゲル濾過法を用いて細胞分画を行った結果、アオウミガメおよびタイマイの肝サイトソル中の MT に Cu、Zn、Cd、Ag が結合していた。ウミガメ類に高濃度蓄積している Cu と Ag は、肝臓中の約 70%以上が MT に結合して存在していた。肝臓中元素濃度が高い個体は、MT 面分中の元素濃度が上昇する傾向を示した。これらの結果から、ウミガメ類の種特異的な元素蓄積と、高濃度蓄積した元素の毒性軽減に MT が関与しているものと考えられた。また、陰イオン交換クロマトグラフ分析により、2 種のウミガメ類において複数の MT 異性体の存在が示唆された。RT-PCR 法および RACE 法により MTcDNA の塩基配列の解明を試みたところ、アオウミガメとタイマイの両種でそれぞれ 2 つの MT 異性体の存在が確認された(gtMT-A と gtMT-B および htMT-A と htMT-B)。gtMT-A と gtMT-B、もしくは htMT-A と htMT-B のアミノ酸配列の相同性は、約 70%と低い値を示した。一方、gtMT-A と htMT-A、および gtMT-B と htMT-B を比較すると、ともに高い相同性(100%と 94%)を示した。ウミガメ類 2 種より得た MTs のアミノ酸配列を他種と比較したところ、鳥類の MT に最も類似していた。

Involvement of metallothionein in accumulation of trace elements and cloning of the isoforms in the liver of green turtle (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*)

Yasumi Anan, Eun-Young Kim, Takasbi Kunito, Hisato Iwata and Shinsuke Tanabe Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, Japan

Involvement of metallothioneins (MTs) in accumulation of trace elements in the liver of green turtle (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) was examined by ultracentrifugation and gel filtration methods. The cDNAs encoding MT-isoforms were also cloned and sequenced from the livers of both turtles. In the cytosol of livers, Cu, Zn, Ag and Cd were mainly found in MTs fraction, particularly more than 70% of Cu and Ag were present in the MTs fraction. These results suggest that such trace elements were primarily detoxified by interaction with MTs in the liver. The cDNA sequences of two MT isoforms were obtained from green (gtMT-A and gtMT-B) and hawksbill (htMT-A and htMT-B) turtles using RT-PCR and RACE methods. These cDNAs had an open reading frame of 63 amino acid residues. Interestingly, amino acid identity of gtMT-A and htMT-A (or gtMT-B and htMT-B) were higher than that of gtMT-A and gtNT-B (or htMT-A and htMT-B). Phylogenetic analysis revealed that amino acid sequences of sea turtle MTs were mostly closed to those of avian MTs.