

B-30

有鬚動物マシコヒゲムシ共生細菌の同定と単離の試み

くぼたのりひろ なかがわたろう ささやまゆういち かねもりまさあき ふくもりよしひろ
 ○久保田憲広、中川太郎、笹山雄一*、金森正明、福森義宏

金沢大・理・生物、*金沢大・自然計測センター

【目的】

マシコヒゲムシ(*Oligobrachia mashikoi*)は能登半島先端に位置する九十九湾の水深約 20~30m の硫化物に富む泥中に生息している。この動物は水深約 2000m の熱水噴出口付近で生息しているハオリムシと同じ有鬚動物門に属し、口や肛門、消化器官を全く持たない。これらの生物は体内に化学合成独立栄養細菌を共生させており、その共生細菌が非光合成的に炭酸固定し、合成した有機物から生育に必要なエネルギーを獲得していると考えられている。一方、他の有鬚動物では共生細菌が宿主の配偶子には存在しないことが報告⁽¹⁾されており、このことは共生細菌は各世代毎に周辺環境等から獲得されていることを示唆する。本研究では、マシコヒゲムシと細菌との共生の意義やその分子機構の解明を目的に、共生細菌の 16S rDNA 配列を決定し、その分子系統を考察した。さらに、化学合成イオウ酸化細菌が選択的に生育する培養液を用いて、宿主が生息している周辺土壌からマシコヒゲムシ共生細菌と同一の 16S rDNA の配列を有する細菌の単離を試みた。

【結果・考察】

(i) マシコヒゲムシ破碎液を鋳型として Bacteria 16S rDNA に特異的なプライマーを用い PCR を行なった。複数回の独立の PCR から得られた増幅断片をクローニングし 15 個のクローンについて塩基配列を決定した。その結果、全て同じ塩基配列を有し、1 種類の DNA のみが増幅されていた。また、その分子系統解析から本細菌は γ Proteobacteria に属していた。

(ii) 九十九湾からマシコヒゲムシを採取する際に得られる泥(約 2g)を化学合成イオウ酸化細菌用の培養液(100ml)に接種し、約一年間継代培養(15回)を行なった。その後、1ml の培養液から得られた菌体の染色体 DNA を鋳型として Bacteria 16S rDNA に特異的なプライマーを用い PCR を行なった。増幅断片を鋳型として(i)で得られた細菌に特異的なプライマーを設計し nested PCR を行なったところ、マシコヒゲムシ共生細菌の 16S rDNA の配列と完全に一致する rDNA を持つ細菌が培養液中に存在することを示す結果が得られた。現在、その培養液から本細菌の単離を試みている。

- (1) Cary SC, Warren W, Anderson E, Giovannoni SJ.(1993) Mol Mar Biol Biotechnol 2(1):51-62