

有鬚動物マシコヒゲムシ個体内での共生細菌の局在

○久保田憲広¹、笹山雄一²、會田将人¹、金森正明¹、福森義宏¹¹金沢大・院・自然科学、²金沢大・自然計測応用研究センターLocalization of endosymbiont in a body of pogonophoran *Oligobrachia mashikoi*Norihiro Kubota¹, Yuichi Sasayama², Masato Aida¹, Masaaki Kanemori¹, Yoshihiro Fukumori¹¹Grad.Sch.Nat.Sci.Tech., Kanazawa Univ. ²Inst.Nat.Env.Tech., Kanazawa Univ.Key words: Pogonophora, Endosymbiosis, *In situ* hybridization, 16S rDNA

【目的】マシコヒゲムシ (*Oligobrachia mashikoi*) は、ハオリムシと同じく有鬚動物門に属し、口、消化管及び肛門を持たず、能登半島九十九湾の水深約25mの泥中に生息する。これまでの電子顕微鏡による観察から、本種は、ハオリムシと同様に栄養体に細胞内共生細菌を有していることが報告されている。これまでの我々の16S rDNAの分子系統解析から、本細菌はγ-プロテオバクテリアのイオウ酸化細菌またはメタン酸化細菌と同じグループに属することがわかった。本研究の目的は、マシコヒゲムシ1個体に複数種の共生細菌が存在するかを検討することと、得られた共生細菌のrDNAを用いて宿主内での共生細菌の局在を調べることである。

【方法】Get pureDNA Kit-Blood(同仁)を用いてマシコヒゲムシからDNAを抽出した。Lane (1991)の方法に従って真正細菌の16S rDNAに共通なプライマーを設計し、マシコヒゲムシDNA抽出液を鋳型にしてPCRを行い、共生細菌の16S rDNAの塩基配列を決定した。異なるプライマーセットを用いて1個体中での複数種の共生細菌の検出のためにDGGE解析を行った。また、共生細菌の局在を確認するための特異的なDNAプローブを作製した。

【結果および考察】マシコヒゲムシの解析個体数を増やして共生細菌の16S rDNAの塩基配列を調べたところ、現在まで5種類の異なった配列が確認された。しかしながら、PCR-DGGE法によりマシコヒゲムシ1個体が有する共生細菌の種類を検討したところ、多くの場合、宿主1個体から得られた16S rDNAは1種類であった。5種類のrDNAの相同性は97-99%であり、異なる細菌種由来かどうか現時点では判断できない。マシコヒゲムシは幼生時に外界から細菌を体内に取り込むと考えられている。5種類のrDNAをもつ細菌が自由生活を営んでいるかどうかは不明であるが、マシコヒゲムシ1個体が1種類の細菌を選択し、細胞内に保持していることは、共生関係成立の要因を調べるうえで重要な手がかりとなることが期待される。現在、共生細菌の16S rDNAに対する特異的プローブを作製し、*in situ* ハイブリダイゼーション法により共生細菌がマシコヒゲムシ栄養体での局在を検討しており、その結果についても報告する。

久保田憲広 Norihiro Kubota : kunou@stu.kanazawa-u.ac.jp