

Distributions of symbiotic bacteria and their relationship with the cytoskeleton in the bacteriocytes of the beard worm, *Oligobrachia mashikoi*(Progonophora)

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/42946

有鬚動物マシコヒゲムシのバクテリオサイトにおける共生細菌の分布と細胞骨格との関係

山田哲也

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学自然計測応用研究センター, 臨海実験施設

Tetsuya Yamada: Distributions of symbiotic bacteria and their relationship with the cytoskeleton in the bacteriocytes of the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Pogonophora)

ヒゲムシの栄養体は、化学合成細菌を共生させているバクテリオサイトと呼ばれる細胞と、その細菌がつくる有機物を蓄積させる、あるいはその細菌を細胞内消化した時に生じる有機物を蓄積させる栄養貯蔵細胞より成る。これまで栄養体の形態・生理学的側面を研究している過程で、光学顕微鏡を用いて観察していたところ、バクテリオサイトの細胞質において、リソゾームの分布に偏りがあることに気がついた。また、透過型電子顕微鏡写真で栄養体を観察すると、共生細菌についても細胞質内で偏りがあることが明らかになった。但し、栄養貯蔵細胞と接している側に細菌が多く、接していない側にリソゾームが分布する傾向があるとわかった。しかしながら、電子顕微鏡で観察される範囲は極めて狭いので、この傾向を一般化できるか否か不明であった。一方、光学顕微鏡は、大きな範囲を観察できるが、共生細菌は小さいので、通常の方法では細菌を見ることはできなかった。

そこでバクテリオサイトにおいて、リソゾームや細菌の分布に偏りがあるのは、生理学的に意味があるのではないかと考えた。これまで細胞内小器官の動的分布は、細胞骨格と密接な関係があることが示唆されている。したがって、本研究においては、蛍光顕微鏡を用いて、細胞骨格要素を染色し、細菌の分布と何らかの関係があるか否かを調べた。

まず、バクテリオサイトの細胞質において細菌の位置を明確に捉えるために、DNAのアデニンとチミンに特異的に結合して蛍光を発するDAPI染色 (KPL社) を行った。細胞骨格要素の微小管を構成するチューブリンは、一次抗体 (ラットモノクローナル抗体、Abcam社) に対する二次抗体に蛍光色素であるAlexa Fluor488 (Molecular Probe社) を標識した二次抗体を用いて検出した。アクチンフィラメントは、これに特異的に結合するRhodamin Phalloidin (Cytoskeleton社) を用いて蛍光染色を行った。

その結果、共生細菌はDAPI染色により明瞭に染め出すことができた。微小管は緑の蛍光の繊維として観察された。細菌はその繊維に沿って認められる場合とまったく関係がない部分に見出される場合もあった。共焦点レーザー顕微鏡を用い、微小管との関係を精査すると、細菌の53%に微小管との関連性を見出せなかったが、47%が微小管に近接しているとわかった。また細菌自体はperi-bacterial membraneと呼ばれる小胞に入っているため、微小管に沿っている場合は、これが微小管に接しているのかもしれない。一方、アクチンフィラメントは赤い繊維として染め出されたが、ヒゲムシにおいては、体壁の筋肉層のみが染色された。

以上の結果を併せて考えると、栄養貯蔵細胞が隣接するときは、やはり微小管などの細胞骨格によって細菌の分布は偏るように規制されると考えるのが、妥当と思われる。今後は、組織の中のバクテリオサイトを観察するのではなく、生体より分離して培養し、より細部にわたって詳細に観察することを目指したい。

(本研究は、金沢大学理学部生物学科 山田哲也君の卒業論文の一環として行われた)