

深海性二枚貝シマイシロウリガイの共生菌伝播時期の解明

○井川 かなえ (東京海洋大学大学院・海洋研究開発機構), 多米 晃裕 (マリン・ワーク・ジャパン・北里大学大学院), 本郷 悠貴 (水産総合研究センター), 重信 秀治 (基礎生物学研究所), 山本 正浩, 丸山 正, 吉田 尊雄, 生田 哲朗 (海洋研究開発機構)

シロウリガイ類は深海の湧水域や熱水域に優占し、鰓の上皮細胞内に硫黄酸化細菌（共生菌）が共生する二枚貝である。宿主は栄養を共生菌に依存するため、生存には共生菌が必要不可欠であると考えられている。共生関係を維持するためには、如何に確実に宿主の世代を越えて共生菌を伝えるかが重要であるが、その伝播メカニズムの理解は進んでいない。シロウリガイ類の共生菌は、卵を介して親から子へ伝わる垂直伝播によって、宿主の世代間で引き継がれると考えられている (Cary and Giovannoni 1993; Endow and Ohta 1990; Szafranski, et al. 2014)。しかし、共生菌が宿主の配偶子形成過程のいつ、どのようにして配偶子へ伝わるのかは分かっていない。そこで本研究では、シマイシロウリガイ (*Calyptogena okutani*) の稚貝を用い、共生菌の分布を宿主の配偶子の発達段階ごとに解析することで、共生菌がいつ配偶子に伝わるのかを明らかにすることを目指した。

本研究では、研究船「なつしま」による、相模湾初島沖にて実施されたNT13-07航海 (2013年4月)、NT14-05航海 (2014年4月) および、中部沖縄トラフにて実施されたNT15-02航海 (2015年1月) において、無人探査機「ハイパードルフィン」を用いて採取したシマイシロウリガイを使用した。

宿主の配偶子となる生殖系列の細胞と共生菌の局在解析には、共生菌の16S rRNAと生殖細胞特異的マーカーによる蛍光二重 *in situ* ハイブリダイゼーション (ISH) を用い、厚切り切片の共焦点顕微鏡による3次元的な観察と、薄切り切片の電子顕微鏡観察を行った。尚、稚貝の雌雄はPNAレクチンの染色性により判別した。

ISHの結果、稚貝雄の精巣内には共生菌のシグナルは観察されなかった。一方、雌稚貝の卵巣内では、濾胞細胞の細胞内に共生菌のシグナルが観察された。さらに、雌性配偶子のうち、減数分裂を開始し、卵核胞を有する卵母細胞の表層に共生菌が観察されたが、減数分裂を開始する前の卵原細胞の細胞内および近傍には共生菌のシグナルは観察されなかった。

ISHで卵母細胞の表層に観察された共生菌の局在が、卵母細胞の中か外かを明らかにするために、電子顕微鏡による観察を行った。透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察した結果、細菌様の構造が生殖細胞の細胞膜の外に接して分布していた。この細菌様の構造が本当に共生菌であるかを確認するため、ISHにより共生菌を検出した同一の樹脂包埋切片を走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察した。その結果、TEMによる観察と同様に、共生菌は卵母細胞の細胞膜の外に接して分布していた。

以上により、シマイシロウリガイの共生菌は卵原細胞には分布しておらず、卵母細胞の細胞膜の外に接して分布していることが明らかとなった。このことから、シマイシロウリガイの共生菌は、卵原細胞以前の段階では伝播しておらず、減数分裂を開始して卵母細胞へと進んだ後に、卵母細胞の細胞膜の外側に伝えられると考えられた。今後は卵母細胞へ共生菌を伝える供給源となる細胞とその伝播のメカニズムを明らかにして行きたい。