

シチヨウシンカイヒバリガイ稚貝と成貝における

共生細菌亜集団の割合

○高橋 優太（海洋大学，海洋研究開発機構），井上 広滋（東京大学），
吉田 尊雄（海洋大学，海洋研究開発機構），藤倉 克則・生田 哲朗（海洋研究開発機構）

イガイ科二枚貝の一属であるシンカイヒバリガイ属 (*Bathymodiolus* 属) は深海熱水噴出孔やメタン湧水域に生息し、硫化水素やメタンあるいは水素からエネルギーを取り出す化学合成細菌を鰓上皮細胞内に共生させており、この共生細菌に栄養を依存していると考えられている (Duperron et al., *CR Biol* 2009; Petersen, et al., *Nature* 2011)。シンカイヒバリガイ類は、共生細菌を環境水中から取り込むことが知られている (Won, et al. *Appl Environ Microbiol* 2003) が、これまでに、成貝ではエラ上皮細胞にのみ共生細菌が存在するのに対して、稚貝ではエラ上皮細胞だけでなく足や外套膜の上皮組織にも共生細菌が存在することが報告されている (Wentrup, et al. *ISME J* 2013)。しかし、宿主の成長過程のいつ、どのような環境条件の影響を受けながら共生細菌が宿主へ取り込まれるのかはまだ分かっていない。

本研究で対象としたシチヨウシンカイヒバリガイ (*Bathymodiolus septemdierum*) は、伊豆小笠原海域の深海熱水域に生息し、硫黄酸化型の共生細菌を共生させている。これまでに、シチヨウシンカイヒバリガイ共生細菌のゲノム解析から、宿主 1 個体に存在する共生細菌は、種としては 1 種類でありながら、水素酸化遺伝子群と硝酸還元遺伝子群それぞれを保持している菌亜集団と保持していない菌亜集団が混在することが分かっている。さらに、宿主 1 個体での共生細菌の各亜集団の割合は、宿主の成長過程あるいは生息場所などにより変化することが示唆されているが (Ikuta, et al. *ISME J* 2016)、詳細を明らかにするための研究は未だ行われていない。

そこで本研究では、シチヨウシンカイヒバリガイの稚貝と成貝を用い、定量 PCR と蛍光 *in situ* hybridization (FISH) 法によって、宿主の成長過程において共生細菌の亜集団の割合が変化するのかを確かめた。稚貝と成貝から DNA を抽出し、水素酸化遺伝子群の 1 つである *hupL*、硝酸還元遺伝子群の 1 つである *narG* と、全ての共生細菌が持っている *dnaA* の分子数を絶対定量 PCR によって解析し、*hupL* と *narG* の値を *dnaA* の値で割ることで、各遺伝子群を保有する共生細菌の亜集団の割合を求めた。FISH による解析では、水素酸化遺伝子群の遺伝子座、硝酸還元遺伝子群の遺伝子座と、全ての共生細菌が持っている *dnaA* 遺伝子座の領域のプローブを作成し、成貝エラおよび稚貝全身の切片で二重染色を行なった。蛍光染色した切片の共焦点レーザー顕微鏡画像から、蛍光シグナルの検出範囲を算出し、各遺伝子群を保有する共生細菌の亜集団の割合を求めた。

これまで、各遺伝子群を保有する共生細菌の亜集団の割合は、宿主の成長に従い減少することが示唆されていた。しかし、今回の定量 PCR と FISH 解析の結果では、少なくとも水素酸化遺伝子群保有菌の割合は、必ずしも稚貝から成貝で一方向に変化するものではないことが見えてきた。さらに、硝酸還元遺伝子群保有菌の分布は、稚貝のエラと足では異なることが示唆された。