

ホソヘリカメムシ-*Burkholderia* 共生系の成立に関わる 糖タンパク質の解析

応用生物科学専攻 生命分子科学講座 微生物新機能開発学 西 郁美

1. 背景と目的

多くの動植物はその体内に共生微生物を持ち、緊密な相互作用を行っている。共生微生物は宿主生物の栄養代謝や環境適応において必須の役割を果たしており、宿主生物はそれら重要な共生微生物を次世代に確実に受け渡すため「母子間伝播」と「環境獲得」という2つのメカニズムを発達させている。後者を行う生物においては、孵化（または発芽）した子供達が周囲の環境中に生息する共生微生物を特異的かつ効率的に獲得することが知られているが、環境中には数10万種を超える雑多な微生物が生息していることを考えると、その感染特異性は驚異的とも言える。サンゴ-褐虫藻の共生系やミミカ-発光ビブリオの共生系においては、宿主-共生微生物間の特異的認識に細胞表面の糖鎖が重要な役割を果たすことが報告されている。ダイズの重要害虫であるホソヘリカメムシ (*Riptortus pedestris*) も周囲の環境土壌中から *Burkholderia* 属の共生細菌を特異的に獲得することが知られているが、その特異性を決めるメカニズムについてはほとんど分かっていない。そこで本研究では、ホソヘリカメムシ共生系において共生器官内に発達する糖鎖構造が共生微生物の感染特異性に果たす役割について検証を行った。

2. 結果と考察

ホソヘリカメムシは消化管後部に盲囊（もうのう）と呼ばれる袋状組織を多数発達させており、その内腔に *Burkholderia* 共生細菌をぎっしりと保持している。以下では、この盲囊発達部位を「共生器官」とする。それぞれ異なる糖鎖末端に特異性を持つ14種類の蛍光標識レクチンタンパク質を用いて共生細菌感染および非感染虫の共生器官を染色したところ、非感染虫の共生器官内腔に SBA（ダイズレクチン）、PNA（ピーナッツレクチン）、IB4（バンディラマメレクチン）で染色される糖タンパク質が特異的かつ高密度に発達することを発見した。この糖タンパク質を解析するため、非感染虫の共生器官を破碎したサンプルで SDS-PAGE を行った後に上記レクチン3種を用いてレクチンブロットを行ったところ、3種のレクチンに共通して分子量の異なるバンドが3本検出された。その1つは、①ホソヘリカメムシが環境土壌中から共生細菌を獲得する2-3齢をピークにその後大きく発現量が減少しており、また②感染虫の共生器官では発現量が大きく減少していたことから、共生の成立に何らかの役割を果たしている可能性が強く示唆された。また、SBA を用いたレクチンアフィニティークロマトグラフィーによって共生器官の破碎サンプルを精製してレクチンブロットしたところ、目的の糖タンパク質はラクトースによって溶出されることが明らかとなった。その後、共生器官破碎サンプルで SDS-PAGE を行った後にコロイダルCBB染色し、目的の糖タンパク質のバンドを LC-MS/MS によって解析したが、夾雑物が多く目的の糖タンパク質を同定することは困難であった。発表では、レクチンブロットや組織観察の結果から、共生器官内の糖タンパク質がホソヘリカメムシ共生系に果たす役割について議論する。