

ホソヘリカメムシ共生時にみられる

Burkholderia 共生細菌の形態変化に関する研究

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 基礎環境微生物学 後藤 栞

1. 背景と目的

細菌との内部共生は動植物に広くみられる現象であり、宿主への感染・定着の過程で共生細菌には様々な変化が引き起こされる。我々はこれまでの研究で、ホソヘリカメムシ-*Burkholderia* 共生系において共生細菌はカメムシ腸内で小型化し、一部は球形へと変化することを明らかとしてきた。また、細胞壁の合成に関わる酵素である *AmiC* の遺伝子を欠損した菌株 (Δ *amiC* 株) を共生させた場合、野生株と同様に球形細胞の割合が増加するとともに、これらの細胞の一部が膨大化することを発見した。そこで本研究では、 Δ *amiC* 株が示す細胞の球形化および膨大化を形態変化の指標として、共生細菌がカメムシ腸内で小型球形になる機構とその生物学的意義について解明を試みた。

2. 方法

共生細菌が示す細胞形態変化の要因を明らかにするため、 Δ *amiC* 株をさまざまな栄養条件で培養を行い、またさまざまなストレス条件で培養を行い、カメムシ共生時にみられる形態変化を再現できるか調査した。最少培地にストレス物質、もしくは炭素源となる物質を加えた試験培地を調製し、対数増殖期まで培養した Δ *amiC* 株を濁度が 0.05 になるよう加え、27°C, 150 rpm で対数増殖期まで培養した。この培養液中の細菌形態を蛍光顕微鏡で観察し、ImageJ を用いて画像解析を行うことで細胞形態を定量的に評価した。

また、共生時に引き起こされる形態変化が持つ生物学的意義を明らかにするため、昆虫の生理生態が大きく変化する脱皮現象に着目し、脱皮の前後で Δ *amiC* の形態がどのように変化するか経時的な観察を行った。2 齢初期のホソヘリカメムシに Δ *amiC* 株を経口接種し、3 齢の初期、中期、後期のそれぞれにおける共生器官内の細菌形態について、共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いて観察した。

3. 結果と考察

Δ *amiC* 株をさまざまな栄養条件およびストレス条件で培養する実験により、炭素源の制限によって小型化が、細胞壁合成阻害剤の添加で球形化が起こることが明らかとなった。これより共生細菌の形態変化にはカメムシ腸内の栄養環境やストレス因子が重要な役割を果たしていると考えられる。中でも、膨大化は細胞壁合成阻害剤 (Fosfomycin) を添加した場合のみ現れたことから、共生器官内に存在する細胞壁合成阻害物質の働きによっておこる現象である可能性が高いと考えられる。これまでの研究において、ホソヘリカメムシ共生器官において多くの抗菌タンパク質 (AMPs) が分泌されていることが報告されており、これら AMPs が共生細菌の形態変化に関与している可能性が示唆される。

また、脱皮前後における Δ *amiC* 株の形態変化を観察したところ、脱皮直前に膨大化細胞細菌の割合が増加することが明らかとなった。ホソヘリカメムシ腸内では脱皮直前に生体防御に関連する遺伝子の発現が上昇し、共生細菌数が一時的に減少する (Kim *et al.*, 2014) ことから、このような形態変化の変遷は宿主の脱皮、およびそれに伴う AMPs の発現亢進に関連した現象であると考えられる。一般的に昆虫は脱皮前に絶食することが知られていることから、ホソヘリカメムシは脱皮直前の飢餓状態に耐えるため、共生細菌を一部消化して栄養を補っている可能性が高い。