

オオモンクロナガカメムシに細胞内共生する

Burkholderia の共生関連遺伝子

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 基礎環境微生物学 栗原駿太

1. 背景と目的

多くの昆虫がその細胞内に共生細菌を持ち、緊密な相互作用を行なっている。しかし、それら細胞内共生の分子基盤はほとんど解明されておらず、昆虫-細菌間の代謝統合メカニズムについては不明な点が多い。その大きな理由は、共生細菌が宿主の細胞内環境に高度に適応しており、単離培養が難しく、これにより遺伝子組み換えなどの逆遺伝学的実験アプローチを全く適用できない点にある。本研究の対象であるオオモンクロナガカメムシ (*Metochus uniguttatus*) は *Burkholderia* 属細菌を土壌から獲得し、中腸の上皮細胞内に共生させる。この *Burkholderia* 共生細菌は単離培養可能であり、また遺伝子組み換えが可能である。さらに、宿主であるナガカメムシは体サイズが大きく飼育が容易で高い繁殖力を示すことから、本共生系は細胞内共生研究の新規モデル系になると期待される。これまでに発表者は、共生細菌の感染経路や適応度効果、体内個体群動態など基礎的知見を解明してきた。本研究では、*Burkholderia* 共生細菌の遺伝子変異株の感染スクリーニングを行い、細胞内共生に関与する遺伝子の特定を目指した。

2. 方法と結果

【遺伝子欠損株の感染実験】 本研究室に保存されている *Burkholderia* の遺伝子欠損株 41 株について感染実験を行い、感染率とカメムシの生存率を測定した。孵化直後の 1 齢幼虫に遺伝子欠損株を感染させ 8 日間生育させたのち、各 5 匹を解剖して蛍光顕微鏡で観察することにより感染率を測定した。生存率については感染個体 20 匹を成虫まで飼育することで測定した。その結果、感染率または生存率が計 12 の株で減少し、共生関連遺伝子の一部を解明することができた。共生異常が見られた遺伝子欠損株のほとんどは腸内共生器官に全く到達しないか、単に感染・定着が遅延するものであった。しかし、共焦点顕微鏡による詳細な組織観察により、*bacA* 遺伝子欠損株がカメムシの細胞内に共生できないことを発見した。以下に、今回新たな発見となった *bacA* 遺伝子欠損株の共生動態についてその詳細を報告する。

【*bacA* 欠損による適応度の低下】 *bacA* 欠損株をオオモンクロナガカメムシに感染させ、適応度パラメーターを測定した。その結果、生存率・成虫重量・産卵数の大幅な減少が見られ、適応度が顕著に低下することが明らかとなった。さらに羽化成虫は野生株を感染させた個体より体色が白色化しており、共生器官への感染・定着も散逸的であった。この結果から、*bacA* 遺伝子はオオモンクロナガカメムシへの共生に関わる重要な遺伝子であると結論づけることができる。

【*bacA* 欠損株の共焦点顕微鏡観察】 野生株は共生器官の細胞内に安定的に定着していたのに対し、*bacA* 欠損株では全く菌の入っていない細胞が数多く観察された。この結果から、*bacA* 遺伝子は細胞内共生に必須の遺伝子であり、細胞内への感染不全が宿主カメムシの適応度を減少させたと考えられる。環境中から獲得される細胞内共生としてはマメ科植物-根粒菌の共生系が有名だが、興味深いことに根粒菌においても *bacA* 遺伝子が宿主細胞内における定着・維持に必須であることが知られている。カメムシ細胞内共生系における本遺伝子の機能についてはまだ不明な点が多いが、根粒共生系と相似な進化が起きている可能性が高い。