©2024 筑波大学生物学類

筑波大学構内の淡水環境におけるウアブ系統群細菌の探索

大沼　万優子（筑波大学 生物学類）　　指導教員：石田　健一郎（筑波大学 生命環境系）

【背景・目的】

生物進化の歴史の中で最も注目すべき出来事の一つは、真核生物の誕生である。真核生物と原核生物の間には、細胞やゲノムの複雑さという点で大きな差が存在する。一説には、真核生物の祖先が食作用によってα-プロテオバクテリアを取り込み、ミトコンドリアとしたことが、真核生物誕生の原動力であるとされている。しかし、原核生物が真核生物に似た食作用を示したという例は近年まで報告されていなかった。

Ca. Uabimicrobium amorphum（以下ウアブ）は2019年にパラオ共和国の海水中から単離された細菌で、他の細菌や小さな真核生物を取り込む貪食様行動を示すことが報告されている。ウアブは、真核生物の食作用関連遺伝子に相同な遺伝子はほとんど持たないことから、この貪食様行動は真核生物とは独立に獲得されたことが示唆されている。そのため、ウアブは原核生物における食作用の進化を知る上で重要な生物だと考えられている。環境DNA解析からは、ウアブに近縁な細菌は海水中だけでなく、淡水、土壌等の様々な環境に普遍的に存在していることがわかっている。ウアブ近縁系統に含まれる細菌の多様性を明らかにすることは、ウアブが貪食様行動を得るに至った進化の過程を明らかにする上で重要である。

先行研究による大学構内の淡水環境の環境DNA解析から、9つのウアブに近縁なクレードの存在が明らかになった。それら淡水性ウアブ系統群うちの一つ、天の川で検出されたクレード6に関しては、蛍光in situ hybridization（FISH）による蛍光像の観察にも成功している。しかし、観察例が少なく形態的特徴を把握するには未だ不十分である。

本研究では、淡水性ウアブ系統群に含まれる細菌の形態的特徴を明らかにすることを目的として、クレード6を含めた複数のクレードに対してPCRによる各クレードに特異的な配列の検出及び、FISHによる細胞の可視化を行った。

【方法】

筑波大学構内の淡水環境（天の川、兵太郎池、松美池）において、堆積物サンプルを収集し、FastDNA Spin Kit For Soilを用いてそのDNAを抽出した。抽出したDNAに対して、特異的プライマーを用いたPCRを行い、サンプル中に淡水性ウアブ系統群細菌が存在しているかを確認した。淡水性ウアブ系統群細菌の存在を確認できたサンプルに対してFISHによる染色を行い、蛍光顕微鏡でその蛍光の様子を観察した。

【結果と考察】

淡水性ウアブ系統群に特異的なプライマーを用いたPCRの結果、クレード6は天の川の堆積物サンプルから特異的配列の増幅を確認することができた。これにより、先行研究と同様に、天の川では安定して淡水性ウアブ系統群細菌が生息していることを確認した。先行研究において兵太郎池での存在が確認されていたクレード9では、今回兵太郎池の堆積物サンプルから配列の増幅が確認できず、淡水性ウアブ系統群細菌の数が減少したか、または現在は生息していないことが考えられる。松美池で検出されたクレード3、クレード4、クレード5については、新規のプライマーを作成しPCRを行ったが、こちらも松美池の堆積物サンプルから配列の増幅は確認できなかった。クレード9と同様に、それらに含まれる細菌の生息数が減少したか、または消失してしまった可能性が考えられる。

PCRにより淡水性ウアブ系統群細菌の存在が確認できたクレード6に関して、計14回のFISHを行いその蛍光の様子を観察した。その結果、新たに4例の蛍光像を得ることができた（**Fig.1**）。

得られた蛍光から、細胞の大きさは4-8 μm程度と考えられ、これは4-5 μmのウアブよりやや大きい。またDAPI染色による蛍光は、細胞内に複数の局在が見られるウアブとは異なり、細胞内全体に観察された。これにより、淡水性ウアブ系統群細菌は、ウアブのように細胞内に仕切られた核様体構造を持たないことが示唆される。

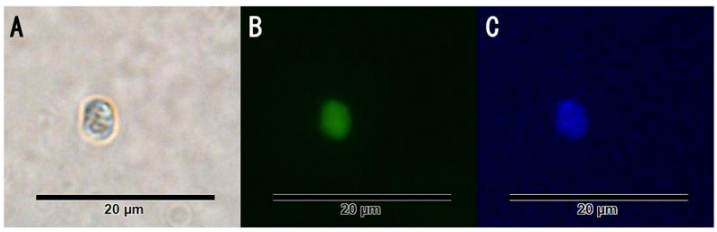

Fig 1. 天の川から採取した堆積物サンプルの蛍光顕微鏡写真。

Aは明視野像、Bは特異的プローブによる蛍光像、CはDAPI染色による蛍光像。

【今後の展望】

本研究から、淡水性ウアブ系統群細菌はウアブと異なる形態的特徴を持つことがわかった。今後は、得られた形態情報や蛍光シグナルを元に細胞を単離し、ゲノムシーケンスを行う予定である。得られたゲノム情報から、淡水性ウアブ系統群細菌の生態や代謝が明らかになることが期待される。また、代謝経路の推定によって培養条件の最適化を行うことで、クレード6の培養株確立を行っていく予定である。

クレード6以外においても、FISHによる蛍光の観察やゲノム解析を行うことで、ウアブに近縁な系統の多様性や貪食様行動の獲得過程の解明につながることが期待される。