

ホロスポラオブツサの感染は宿主のパラメシウムカウダツムの
食胞形成能を変化させる

中村 欽光, 藤島 政博 (山口大・理・生物)

Infection with *Holospira obtusa* changes digestive vacuole formation in the host,
Paramecium caudatum

Yoshimitsu NAKAMURA and Masahiro FUJISHIMA

(Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University)

SUMMARY

The Gram-negative bacterium *Holospira obtusa* is an endonuclear symbiont of the ciliate *Paramecium caudatum*. *Holospira* cannot coexist in a host cell with other bacteria belonging to the same genus. For example, *H. obtusa*-bearing cells (symbiotic cells) eliminate newly introduced *H. elegans* from the host cell. However, it is unknown whether further bacteria of the same species are also eliminated from the symbiotic cells. Both non-*H. obtusa*-bearing (aposymbiotic) and symbiotic cells were mixed with infectious forms of *H. obtusa*, and were observed at 0.5–1.5 and 5–6h after mixing. Compared with the aposymbiotic cells, the symbiotic cells formed fewer digestive vacuoles against the newly added *H. obtusa*. However, the aposymbiotic cells showed decreased digestive vacuole formation to *H. obtusa* at 6h after mixing, although they did not decrease activity against the food bacterium *Klebsiella pneumoniae*, Chinese ink, the reproductive form of *H. obtusa*, or boiled or frozen infectious forms of *H. obtusa*. These results suggest that *P. caudatum* acquires the ability to distinguish the infectious form of *H. obtusa* from other objects within 5h after infection with *H. obtusa*.

[目的] これまでの研究で同属のホロスポラは2重感染するがしかし、その後新たに感染したほうのバクテリアは細胞内で維持されず、やがて排除されることが藤島、ゲルツらによって報告されている(1)。例えば大核特異的なホロスポラオブツサの感染している宿主に、小核特異的なホロスポラエレガンスを新たに感染させた場合、最初エレガンスは食胞に取り込まれ小核に感染する。しかしエレガンスは小核内で維持されることなく、その後排除される。この排除される機構についてはまだわかっていないが、おそらく先に感染したオブツサが強く関与していることが予測される。この現象は近縁種バクテリア同士の競合による最終的な宿主細胞の破壊を免れるための、宿主の防御機構と考えられる。しかし同種のバクテリアが新たに感染した場合、同様に核内から排除されるかどうか、あるいはまったく別の排除する機構があるのかどうかについては調べられていない。宿主にとっても、先に感染しているバ

クテリアにとっても新たな侵入者は自己の死を招く危険な存在と考えられる。よって同種のバクテリアの新たな感染に対しての宿主の防御機構も存在する事は十分考えられる。そこで我々は、ホロスポラオブツサ感染細胞 (symbiotic cell) とホロスポラオブツサの感染を経験したことの無い細胞 (aposymbiotic cell) を用い、新たに同種のホロスポラオブツサ感染型を与えた場合、新たに与えられたバクテリアが宿主内でどのような動態を示すのか口部装置、食胞、核内に注目して経時的に調べた。

[材料と方法] *Paramecium caudatum* Rb-1s58a2株 (syngen4, typeE)、*H. obtusa*-bearing *P. caudatum* (2×10^3 cells/ml)を用いた。これらの細胞に *H. obtusa* (H.O) 感染型 (1×10^7 cells/ml)、比較対象としてボイルした H.O 感染型 (1×10^7 cells/ml)、凍結融解した H.O 感染型 (1×10^7 cells/ml)、H.O 増殖型 (2×10^8 cells/ml)、*H. elegans* (H.E) 感染型 (1×10^7 cells/ml)、*Klebsiella*

(1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 cells/ml)、スミ(1%)を与えた。これらの細菌は観察を容易にするためあらかじめ DAPI 染色され、H.O 感染型、H.E 感染型については DAPI 染色後も感染能力があることを確認した。観察前に細胞を0.15%グルタルアルデヒドで固定し、ノマルスキー、蛍光顕微鏡で観察した。

【結果と考察】 aposymbiotic cell (A-cell)、symbiotic cell (S-cell) それぞれに H.O 感染型を与え、0.5～1.5h、5～6h 後の細胞を観察した結果、0.5～1.5h、5～6h 後共に S-cell の1細胞あたりの H.O を取り込んだ平均食胞数が A-cell と比較して1/5に減少していた。さらに興味深いことに、A-cell において0.5～1.5h と5～6h 後を比較すると、5～6h 後には A-cell でも H.O を取り込んだ平均食胞数が1/2に減少した。対照としてクレブシラやスミを与えた場合は A-cell と S-cell で差は無かった。感染後5～6時間で宿主は H.O 感染型に対する食胞形成能を低下させる傾向が見られたので、さらに詳しく解析するために H.O 感染型、ボイルした H.O 感染型、凍結融解した H.O 感染型、H.O 増殖型、H.E 感染型、*Klebsiella* を DAPI 染色し、A-cell に与えてから15min と6h 後の細胞をそ

れぞれ0.15%グルタルアルデヒドで固定し観察した。その結果、H.O 感染型では15min 後と比較して6h 後には1細胞あたりの H.O を取り込んだ平均食胞数が3/10に減少した。H.E 感染型でも同様の結果が得られた。その他のものは、与えて6h 後には平均食胞数は増加した。感染後6時間で宿主が H.O 感染型に対する食胞形成能を低下させる現象が、一度でも感染を経験すれば誘導される現象かどうか確認するため、H.O 感染型を与えてから15min 後に外液を洗浄して H.O 感染型を取り除き、6h 後再び上記の細菌、スミを与えた。その結果、H.O を取り込んだ平均食胞数はその他のものに比べて明らかに少なく、よって H.O 感染6h 後の細胞は食胞形成能力自体に問題は無く H.O 感染型を認識して食胞に取り込みにくくなると考えられる。これらの結果は、*P. caudatum* はホロスポラの感染5時間以内で感染型ホロスポラとその他の物を識別する能力があることを示唆する。

【文献】

- 1) 藤島政博：寄生から共生へ（山村則雄、早川洋一、藤島政博著）pp155-222, 平凡社（1995）