

小核特異的共生細菌 *Holospora elegans* の DNA は、宿主 *Paramecium caudatum* の大核に水平伝播する

堀 学, 藤井 貴美子, 藤島 政博 (山口大・理・生物科学)

Lateral gene transfer occurs from the micronucleus-specific bacterium *Holospora elegans* to the host *Paramecium caudatum*

Manabu HORI, Kimiko FUJII and Masahiro FUJISHIMA  
(Dept. of Biosci., Fac. of Sci., Yamaguchi Univ.)

SUMMARY

The bacterium *Holospora elegans* is a micronucleus-specific symbiont of the ciliate *Paramecium caudatum*. *Holospora*-bearing paramecia survive well compared with *Holospora*-free paramecia under heat-shock conditions. Furthermore, aposymbiotic cells (paramecia treated with penicillin to remove *H. elegans*) retain this tolerance. We therefore looked for a substance originating from *H. elegans* in aposymbiotic cells. We found that a 16S rDNA of *Holospora* remained in the macronucleus of the aposymbiotic cells. This suggests that the stress response of the host would be enhanced irreversibly, because of lateral transfer of bacterial genes to the macronucleus. The result further suggests that infection with *Holospora* enables the host to adapt to a hot environment.

**[目的]** 大核特異的共生細菌 *Holospora obtusa* を維持しているゾウリムシは、維持していないゾウリムシに比べて、ストレス応答遺伝子の発現が増加し、様々なストレスに対して耐性を示すことがわかっている。又、小核特異的共生細菌 *H. elegans* を維持しているゾウリムシでも、同様の耐性を示した。更に、*H. elegans* をペニシリンによって除去したゾウリムシでも、共生細菌を維持しているゾウリムシと同様の熱抵抗性が維持されていることがわかった。そして、この形質は、共生細菌除去後、少なくとも2年以上維持されること、小核を除去しても維持されることから、*Holospora* 由来の DNA が、小核以外の細胞内に維持されているのではないかと考えられる。

そこで、ゾウリムシのストレス応答を不可逆的に誘導する原因が、本当に *Holospora* 由来の DNA なのかどうか、そして、ゾウリムシ細胞内のどこに存在するのかについて調べた。

**[結果と考察]** 初めに、ペニシリンによって *H. elegans* を除去したゾウリムシ細胞中の共生細菌由来 DNA の存在の有無とその局在性について調べるために、*Holospora* 特異的 16s rDNA プローブ (Amann et al., 1991) を用いて FISH を行った。その結果、*H. elegans* を維持するゾウリムシでは、小核中の *H. elegans* にのみ強いシグナルが観察されたが、*H. elegans* をペニシリンで除去したゾウリムシには、大

核にのみ有意なシグナルが見られ、その多くに核小体様の構造が観察された。しかし、共生細菌を感染させたことのない系統では、全くシグナルが観察されなかった。このことは、ペニシリンで *H. elagans* を除去したゾウリムシの大核中に、*H. elagans* のゲノム DNA が存在することを示唆する。次に、ペニシリンで *H. elagans* を除去したゾウリムシで見られるシグナルが、本当に *H. elegans* の 16s rDNA であるかどうかを確かめるために、PCR による *Holospora* DNA の検出を試みた。*H. elegans* の 16s rRNA の塩基配列は決定されていないため、*H. obtusa* の 16s rRNA の配列を元に、520 bp の断片を増幅する *Holospora* 特異的プライマーを合成し、20 ng のゲノム DNA を鋳型に PCR を行った。その結果、単離した *H. elegans*、*H. elegans* を維持するゾウリムシ、そして、ペニシリンで *H. elegans* を除去したゾウリムシのゲノム DNA からは、520 bp の PCR 産物が得られた。更に、これらの PCR 産物の塩基配列を決定したところ、これら 3 種のゲノムから増幅された PCR 産物は、いずれも同じ塩基配列を持ち、*H. obtusa* の 16s rRNA と 98% の相同性を示した。しかし、約 1,600 bp の *Holospora* groEL を増幅する primer を用いた PCR において、*H. elegans* を維持するゾウリムシからは、1,600 bp の PCR 産物が増幅したが、ペニシリンで *H. elagans* を除去したゾウリムシからは何も増幅してこなかった。このことから、*Holospora* DNA の一部のみか、或いは、細かく断片化した DNA が、ゾウリムシ大核中に存在することが示唆された。そこで、*H. elegans* の DNA がゾウリムシの大核に存在すると、本当にス

トレス応答が誘導されるのかどうかを確かめるために、*H. elegans* が感染したことがないと考えられる細胞 (Ast16; オーストラリア由来) を recipient として、*H. elegans* と *K. pneumoniae* のゲノム DNA を大核に注射し、ストレス応答遺伝子の発現を調べた。その結果、*H. elegans*、*K. pneumoniae* のゲノム DNA は、どちらもゾウリムシに hsp60、hsp70 遺伝子の発現を促進した。しかし、ゲノム DNA の注射で誘導された hsp 遺伝子の発現量は、ペニシリンで *H. elagans* を除去したゾウリムシの発現量に比べて低く、又、3ヶ月以内に発現の促進が消失した。以上の結果から、*H. elegans* 除去後も長期間継続する形質転換の原因について、以下のように考察した。小核内で共生細菌の分解と同時にゲノム DNA は断片化される。断片化した DNA は、何らかの経路で大核に移行し、テロメアが付加されて安定に維持される。*Holospora* 16s rDNA が作る核小体様の構造は、ウイルス感染によるクロモソームの不安定化と同様のストレスを与えると考えられる。その結果、感染防御機構としてのストレス応答が誘導されるので、共生細菌が除去された後も、ゾウリムシに不可逆的なストレス応答が誘導されていると考えられる。

#### [文献]

- 1) Amann, R., Springer, N., Ludwig, W., Gortz, H.D. and Schleifer, K.H. (1991) Nature, 351: 161-164.
- 2) Hori, M. and Fujishima, M. (2003) J. Eukaryot. Microbiol., 50: 293-298.