

細胞内共生クロレラを持つ緑色原生動物の微細構造の比較

早川 昌志, 洲崎 敏伸
(神戸大・院理・生物)

Comparative ultrastructure of green protozoa with intracellular symbiotic *Chlorella*

Masashi Mark HAYAKAWA and Toshinobu SUZAKI
(Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

Freshwater environments include many species of animals and protozoans with intracellular symbiotic *Chlorella*. To compare the ultrastructure of symbiotic *Chlorella* of various host organisms, green (symbiotic) strain of *Mayorella* sp., green *Stentor* sp. (Biwako strain), *Paramecium bursaria* (Kobe strain), and *Hydra viridis* (Minami-Daito strain) were fixed by freeze-substitution and were then observed using a transmission electron microscope. In all organisms, the cell walls of the symbionts were closely apposed to the inner surface of the peri-algal vacuole (PV) membrane with a narrow and constant distance of 25–50 nm. Outer membranes of the host's mitochondria were frequently and consistently observed to be firmly attached, and sometimes fused, with the PV membrane in all host organisms. Aside from these common ultrastructural characteristics, cell walls of the symbiotic *Chlorella* in *P. bursaria* possessed a layer of fluffy structures, while those in green *Stentor* sp. and *H. viridis* appeared smooth. The symbiotic *Chlorella* of *P. bursaria* and green *Mayorella* sp. had a pyrenoid in their chloroplasts, while those of green *Stentor* sp. and *H. viridis* did not. These differences suggest a possible wide genetic variety of *Chlorella* among different symbiotic organisms.

【目的】 淡水の原生動物や無脊椎動物には、細胞内に緑藻クロレラを共生させている仲間が多く知られている。このクロレラ細胞内共生は、それぞれの系統で独立に獲得されたものである。しかし、異なる系統であるミドリゾウリムシやミドリヒドラにおいて、共通する現象(白色化^{1,2)}、共生藻単離培養^{3,4)}、再共生^{1,2)}などがこれまでわかっており、クロレラ細胞内共生において普遍的性質がある可能性がある。今回、細部内共生クロレラに関する体系的な知見を得る目的で、細胞内共生クロレラをもつミドリアメーバ (*Mayorella* sp.)、ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*)、ミドリラップムシ (*Stentor* sp.)、ミドリヒドラ (*Hydra viridis*) といった系統の異なる4種の緑色原生動物および緑色無脊椎動物の再共生実験と、透過型電子顕微鏡による観察を行った。

【材料と方法】 再共生実験には、日本産(栃木)のミドリアメーバ1株、ミドリゾウリムシは日本産(神戸)の1株を、ミドリラップムシはともに日本産(山形、琵琶湖)の2株を、ミドリヒドラは日本産(南大東島)の1株を用いた。これらは全て、ミネラルウォーター Volvic を用いて、20°C 恒明条件下で培養した。餌は原生動物では全て *Chlorogonium capillatum* を、ミドリヒドラには brine shrimp (*Artemia* sp.) を定期的に与えた。まず、C 寒天培地上にそれぞれを破碎したものを塗布し、20°C で明 12 時間暗 12 時間の条件でクロレラの単離培養を試みた。次に単離培養に成功したクロレラを、シクロヘキシミド処理によって共生クロレラを除

去した白ミドリゾウリムシ(神戸)に捕食させ、クロレラの再共生実験を行った。再共生実験は、Volvic において *C. capillatum* を十分に与えた状態で行った。クロレラが十分に細胞内に取り込まれたのを確認した後、細胞を洗浄して更に培養した。2週間以上、細胞内でクロレラの保持を確認できたものを、共生可能と判断した。透過型電子顕微鏡観察は、ミドリアメーバ、ミドリゾウリムシ(神戸)、ミドリラップムシ(琵琶湖)、ミドリヒドラ(南大東島)について行った。それぞれオスミウム・アセトンによる凍結置換固定を行い、Spurr's 樹脂に包埋後、超薄切片を作成して電顕観察をした。

【結果】 緑色原生動物3種4系統についてのクロレラは、すべてC寒天培地上で、単離培養に成功した。一方、ミドリヒドラのクロレラについては培養できなかった。それら4系統のクロレラを再共生実験に用いたところ、ミドリゾウリムシ(神戸)には全て共生した。透過型電子顕微鏡による観察の結果は、4種全てにおいて、クロレラ包膜(PV膜)とクロレラ細胞壁の間の距離が、25-50 nm と非常に接近しているのを確認できた。また、全ての細胞において、宿主ミトコンドリアがPV膜に密着しているのを確認できた。一方、ミドリゾウリムシでは、クロレラ細胞壁において毛羽立ち構造が確認できたが、ミドリラップムシとミドリヒドラでは、細胞壁の表面は平坦であった。また、ミドリラップムシとミドリヒドラのクロレラ葉緑体にはピレノイドが存在しなかった。

【考察】ミドリゾウリムシとミドリヒドらは、細胞内共生クロレラをもつ生物としてよく知られ、白色化したミドリヒドらに、ミドリゾウリムシの共生クロレラが共生できる事も知られている¹⁾。今回、日本産のミドリゾウリムシに、多種由来の共生クロレラがすべて共生した。今後、他の組合せの再共生実験を行っていく必要があるが、共生クロレラには、宿主を違えても、共生しやすいという性質がある可能性が示された。4種の共生クロレラをもつ生物を凍結置換固定して電顕観察をした結果、それらに共通する特徴として、「PV膜と細胞壁の近接」と、「宿主ミトコンドリアとPVの密着」を確認できた。生物の歴史の中で、クロレラの共生はそれぞれ独立に起こったにも関わらず、このような同じ特徴をもつということは、細胞内共生において類似するメカニズムを利用している可能性がある。

一方で、ミドリゾウリムシ共生クロレラでは、毛羽立ち構造が見られるが、ミドリラップムシやミドリヒドらのクロレラでは見られなかった。毛羽立ち構造は、細胞認識に関わるであろう糖鎖等に由来すると考えられるが、種によって有無が異なるというのは、種の特異性に由来している可能性がある。

【文献】

- 1) Jolley and Smith (1980) Proc. R. Soc. Lond. B, 207, 311-333.
- 2) Siegel (1960) Exp. Cell Res., 19, 239-252.
- 3) Reisser (1984) Br. Phycol. J., 19, 309-318.
- 4) Kovačević et al. (2010) Folia Biol. (Krakow), 58, 135-143.