

真核生物誕生仮説としての3菌栄養共生モデル

田村 拓海 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 桑原 朋彦 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

真核生物のゲノムは真正細菌のゲノムと古細菌のゲノムが融合したものとして知られている。真核生物誕生については多くの仮説が提唱されているが、我々は3菌栄養共生仮説を提唱している。この仮説ではエオサイトの発酵古細菌と発酵真正細菌、メタン菌の栄養共生を考える。この仮説は水素仮説とエオサイト仮説の長所を持ちあわせている。水素仮説は発酵細菌とメタン菌間の水素の授受に基づく共生から真核生物が誕生したシナリオを主張している (1)。この仮説の長所は発酵細菌とメタン菌が接近する駆動力を説明できることであるが、短所として真核生物のゲノムにメタン菌の遺伝子が含まれていないことが挙げられる。エオサイト仮説は古細菌の一種であるクレンアーキアの一部のエオサイトから真核生物が誕生したというシナリオを主張している。この仮説の長所は真核生物の細胞分裂機構がエオサイトのそれと似ている (2) ことであるが、短所として真正細菌と古細菌の接近のメカニズムについて述べられていないことが挙げられる。3菌栄養共生仮説ではエオサイトの発酵細菌とメタン菌、バクテリアの発酵細菌とメタン菌の2つの共生がメタン菌をポートとして成り立っていると考える。すると、2種の発酵細菌が接近し、遺伝子の交換が起きると予想される。このようにして、真核生物が誕生したと考えている。

本研究では淡水産の発酵真正細菌の *Thermotogales* 目の *Fervidobacterium* 属のうち、どの種が最も3菌栄養共生に適しているかを調べた。*Thermotogales* 目を用いた理由としては、遺伝子水平転移を多く受け入れている (3) ことが挙げられる。また、淡水産を用いた理由はエオサイトの発酵古細菌 (*Fervidococcus fontis*) が淡水産しか知られていないからである。淡水産で共生が確認されており、入手が容易なメタン菌としては *Methanothermobacter thermautotrophicus* が知られているのでこれを用いた。

材料と方法

Fc. fontis 用の培地の DSM395 培地から NaHCO_3 を除去した培地と *M. thermautotrophicus* 用の DSM231 培地から Na_2CO_3 を除去した培地を 1:1 で混合した培地を培養に用いた。*Fb. islandicum*、*Fb. nodosum*、*Fb. pennivorans* と *M. thermautotrophicus* のそれぞれの組み合わせを、それぞれの菌密度が 1.0×10^5 cells/ml となるように培地に植菌後、 N_2 気相に置換し、pH 6.5、65°C で5日間、共培養を行った。同様に *Fc. fontis* と *M. thermautotrophicus* の共培養を pH 6.7 で10日間行った。*Fb. pennivorans*、*Fc. fontis* および *M. thermautotrophicus* の3菌共培養を、pHを変化させ、10日間行った。培養後、バクテリア計数盤により遊離している菌の菌密度を、Molecular Sieve 5A カラムを用いたガスクロマトグラフィー (GC-5A; Shimadzu) によりメタン濃度を測定した。3菌共培養で生じた沈殿はケイ光顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察し

た。後者においてはサンプルの固定に 2% グルタルアルデヒドを用いた。

結果と考察

Fb. islandicum、*Fb. nodosum*、*Fb. pennivorans* と *M. thermautotrophicus* の組み合わせにおいて初期菌密度から 300 倍と 7.5 倍、640 倍と 10 倍、540 倍と 13 倍の増加が見られた。このときのそれぞれのメタン濃度は 0.5%、0.4% および 1.1% であった。*Fc. fontis* と *M. thermautotrophicus* の共培養においてはそれぞれ初期菌密度から 440 倍、1.3 倍の菌密度の増加が見られ、メタン濃度は 0.4% まで上昇した。この結果は、遊離している菌の菌密度は共生が起きたかどうかの判断に常に使えるわけではないことを示唆した。*Fb. pennivorans*、*Fc. fontis* および *M. thermautotrophicus* の pH 6.3 における3菌共培養ではそれぞれ初期菌密度から 380 倍、80 倍、29 倍の菌密度の増加が見られた。また、メタン濃度は 1.3% まで上昇した。生じた沈殿を SEM で観察したところ、沈殿中に *Fb. pennivorans* と *M. thermautotrophicus* が見られたが、*Fc. fontis* の同定は困難であった (Fig. 1)。また、沈殿中の菌は複雑なネットワーク構造を形成していた。これは *Fb. pennivorans* の鞭毛によるものだと考えられる。多量の EPS が観察されたことから、*Fc. fontis* が EPS に埋もれて、存在していても見えない可能性がある。今後はよりよい3菌共培養の条件の調査と、定量 PCR による沈殿中の菌密度の測定をする予定である。

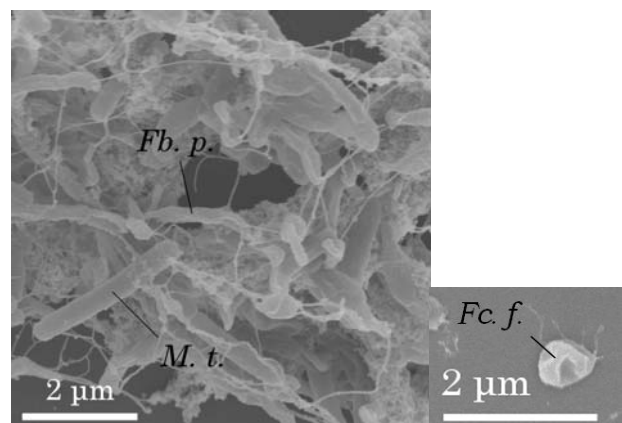


Fig. 1 *Fb. pennivorans*、*Fc. fontis* および *M. thermautotrophicus* の3菌共培養で生じた沈殿 (左) および遊離していた *Fc. fontis* (右) の SEM 写真。*Fb. p.*、*Fb. pennivorans*、*M. t.*、*M. thermautotrophicus* および *Fc. f.*、*Fc. fontis* を示す。

参考文献

- (1) Martin et al. (1998), Nature, 392, 37
- (2) Lindås et al. (2008), PNAS, 105 (45), 18942
- (3) Zhaxybayeva et al. (2009), PNAS, 106 (14), 5865