

J 103a-1 極海洋から分離された *Polaribacter* の
広宿主域遺伝子伝達粒子

○千浦 博, 吉澤 晋, 木暮 一啓

東大・大気海洋研

Key Word: HGT, *Polaribacter*, budding production, VP

極海洋の表層水や海水から分離された *Polaribacter* は、当該環境の春秋での高い生物活性維持に寄与していると考えられるので、群集維持に働く水平遺伝子伝達 (HGT) の媒体として *Polaribacter* の広宿主域遺伝子伝達粒子 (VP) を検討した。VP の特徴は宿主染色体遺伝子を系統的に離れた受容菌に伝達し、感染で生じた形質導入体から *de novo* に出芽生産された粒子が、連続的な形質導入を行い微生物群集に遺伝子を供給する新規の HGT 主体である。 *Polaribacter filamentus* ATCC700397[†]; *P. franzmannii* ATCC700399 を 1/2 Zobell で 24 時間明条件、10℃、14 日間振盪培養し電顕観察したところ、通常海洋観測されるウイルス様粒子より大型粒子 (粒子径 *P. filamentus*: 86-346 nm; *P. franzmannii*: 70-210 nm) の出芽生産を、初めて確認した。 *P. filamentus* の生産粒子を CsCl 平衡密度勾配遠心法により精製し、Upper: 1.2893 ± 0.0102 , Lower: 1.3719 ± 0.0427 の粒子を得た。このうち Upper 粒子を *Escherichia coli* AB1157 に多重感染度 5 で感染 (30℃, 30 分) させ、受容菌致死効果 (EOP) を LB で、栄養要求性回復を Davis 選択培地で検定したところ、EOP は認められず、原栄養性復帰が $5.0 \pm 1.6E-6$ CFU/粒子の頻度生じた。極海洋の高い生物活性維持へ、VP の Phyla を超える HGT への寄与が示唆される。

E 103a-2 Change in the community of associated bacteria with *Veroneopsis simplex* in the response of high temperature stress○Rida Khastini¹, Yoshinori Sato^{2,3}, Hiroyuki Ohta³, Kazuhiko Narisawa³¹United Grad. Sch. of Agri. TUAT, ²National Reasearch Institute for Cultural Properties, ³College of Agr. Ibaraki UniversityKey Word: *Veroneopsis simplex*, associated bacteria, heat stress, IAA

Adverse effect on heat stress due to increased temperature in plant contributed to the limitation of plant growth and development. It can be mitigated by utilizing symbiotic fungi to enhance plant tolerance. Previously *Veroneopsis simplex* originated from the subtropical area showed strong growth promoting activity on the *Brassica* plant and the fungus was also able to grow in 37°C in the presence of associated bacteria. Here we described the effects of high temperature on both plant and fungal symbionts, and the role of the fungus under the heat stress. High temperature affects not only on the growth of the fungus but on the community changes of the associated bacteria with the fungi. Associated bacterial communities treated with high temperature was analyzed by Terminal restriction fragment length polymorphism coupled with the sequence data from 16S rDNA gene cloning. Our results indicated that populations of bacteria were correlated with the growth of the fungus and the members of bacteria were not influenced by the heat stress. The relative abundance of species particularly those belonging Proteobacteria tended to be increased along with temperature. The associated bacteria were also related to the IAA production by the fungi for plant supporting growth and have been reported to play important role in alleviating detrimental effects of heat stress.

J 103a-3 *Microbacterium* 属細菌における新規アシル化ホモセリンラクトン分解遺伝子 (*aiiM*) の多様性と分布○諸星 知広¹, 王文昭¹, 染谷 信孝², 池田 幸¹¹宇都宮大・院工, ²北農研セKey Word: quorum sensing, acylhomoserine lactone, *Microbacterium*, degradation

【目的】多くのグラム陰性植物病原菌は、アシル化ホモセリンラクトン (AHL) を介した細胞間情報伝達機構クオラムセンシングにより病原性の発現を制御しており、人為的に AHL を分解することで病原性の抑制が可能である。これまでに、ジャガイモ葉から 9 株の AHL 分解活性を有する *Microbacterium* 属細菌の単離に成功し、その中の StLB037 株から新規 AHL 分解遺伝子 *aiiM* をクローニングすることに成功した。本研究では、様々な *Microbacterium* 属細菌による AHL 分解を調査するとともに、*aiiM* の分布について解析を行った。

【方法・結果】ATCC および NBRC より入手した *Microbacterium* 属細菌の基準株 15 株および他の植物より単離した *Microbacterium* 属細菌 2 株の AHL 分解活性を調べたところ、全く AHL 分解を示さないか、長アシル鎖 AHL にのみ弱い分解活性を示すことが明らかとなった。次に、高い AHL 分解活性を有するジャガイモ葉由来 *Microbacterium* 属細菌 StLB018 株と StLB069 株から AHL 分解遺伝子のクローニングに成功し、塩基配列を決定したところ、どちらも StLB037 株の *aiiM* と非常に相性の高い遺伝子であることが明らかとなった。これら 3 株の *aiiM* 内部配列中で保存された部位を基にプライマーを設計し、PCR を行ったところ、高い AHL 分解活性を有するジャガイモ葉由来 9 株からは *aiiM* 内部配列の増幅が確認されたが、弱い AHL 分解活性しか示さない他の 17 株からは全く増幅が見られなかった。以上より、ジャガイモ葉由来 *Microbacterium* 属細菌の高い AHL 分解活性は *aiiM* による可能性が示唆された。

J 103a-4 ホソヘリカメムシにおける *Burkholderia* 共生細菌の腸内選別○菊池 義智^{1,2}, 深津 武馬¹¹産総研・生物プロセス, ²北大・農学院Key Word: Gut symbiosis, *Burkholderia*, Insect, Winnowing

ホソヘリカメムシ (*Riptortus pedestris*) は中腸後端部に多数の袋状組織 (盲囊) を発達させ、その内腔中に *Burkholderia* 属の共生細菌を保持している。ホソヘリカメムシと *Burkholderia* の内部共生は共生細菌の母子間伝達を伴わず、土壤中に生息する *Burkholderia* を孵化幼虫が経口的に獲得することで成立する。土壤中にはきわめて雑多な細菌が生息することを考えると、その感染特異性は驚異的とも言える。今回我々はホソヘリカメムシ-*Burkholderia* モデル共生系を用いて、どのようなメカニズムが共生細菌の感染特異性を裏打ちしているのか解明を試みた。カメムシに食紅を吸汁させ消化管内容物の流路を観察したところ、食紅は盲囊器官手前 (M3) までは到達するものの盲囊 (M4) 内にはまったく侵入せず、カメムシ中腸では M3-M4 間で物質の流入が極端に制限されていることが明らかとなった。さらに *Burkholderia* と大腸菌の共感染実験を行ったところ、共生細菌のみが M3-M4 連結部を通過し M4 に達することが明らかとなった。これらの結果から、ホソヘリカメムシ中腸には物質の流入を制限しつつ共生細菌のみを特異的に通過させる極めて高度な細菌選別機構が発達していると結論された。発表ではさらに *Burkholderia* の感染不全株スクリーニング結果を紹介し、共生細菌が M3-M4 連結部を突破するためには鞭毛運動性が必須であることを示す。