

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		原生生物を用いた細胞内共生成立の分子メカニズムの解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of the molecular mechanism that establishes endosymbiosis using protists			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)コダマ	名)ユウキ	研究期間 B	2011～ 2013年
	漢字 CB	児玉	有紀	報告年度 YR	2013年
	ローマ字 CZ	KODAMA	YUUKI	研究機関名	島根大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		島根大学生物資源科学部生物科学科・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>ミトコンドリアや葉緑体を生み出した細胞内共生は現在でも多くの生物同士で見られ、新たな機能と構造の獲得による真核細胞の進化の原動力となっている。しかしその成立機構は明らかにされていない。我々は繊毛虫のミドリゾウリムシとその共生クロレラを用いて、真核細胞同士の細胞内共生が成立するプロセスを明らかにした。このプロセスは次の 4 つからなる。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) クロレラが宿主食胞内でリソソーム消化酵素耐性を示す。 2) クロレラが宿主食胞膜から細胞質へ脱出する。 3) クロレラを包む食胞膜が、リソソームが融合しない PV 膜と呼ばれる共生胞へ分化する。 4) PV 膜に包まれたクロレラが宿主細胞表層直下へ定着する。 <p>本研究は、上記の4つのプロセスに関与する重要分子の解明を目的としている。</p> <p>助成期間中は以下の成果を得た。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ミドリゾウリムシの表層直下に存在している PV 膜以外の全ての構造（トリコシスト、基底小体、ミトコンドリア）に対するモノクローナル抗体が得られた。 2. ミドリゾウリムシへの再共生過程において、クロレラは宿主食胞膜から細胞質中に遊離する。その際の食胞膜からのくびり切りにはダイナミンが関与していることが明らかになった。 3. クロレラの再共生過程におけるクロレラの細胞分裂の開始時期を明らかにした。 4. ミドリゾウリムシとクロレラの再共生が成立して 72 時間以内には、PV 膜を介した宿主とクロレラの物質交換が可能になることが明らかになった。 5. クロレラは宿主細胞表層直下のどの部分にも均等に接着しているのではなく、宿主の背側・腹側、後端、前端の順に接着しやすく、この逆の順に外れやすいことが明らかになった。 6. クロレラが共生している状態のミドリゾウリムシと、クロレラを除去したミドリゾウリムシを用いてトランスクリプトーム解析をおこなった。 					
キーワード FA	細胞内共生	ミドリゾウリムシ	クロレラ		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）										
雑誌	論文標題 ^{GB}	Cell division and density of symbiotic <i>Chlorella variabilis</i> of the ciliate <i>Paramecium bursaria</i> is controlled by the host's nutritional conditions during early infection process								
	著者名 ^{GA}	Yuuki Kodama and Masahiro Fujishima	雑誌名 ^{GC}	Environmental Microbiology						
	ページ ^{GF}	2800~2811	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	Oct14(10)	
雑誌	論文標題 ^{GB}	Localization of attachment area of the symbiotic <i>Chlorella variabilis</i> of the ciliate <i>Paramecium bursaria</i> during the algal removal and reinfection								
	著者名 ^{GA}	Yuuki Kodama	雑誌名 ^{GC}	Symbiosis						
	ページ ^{GF}	25~36	発行年 ^{GE}	2	0	1	3	巻号 ^{GD}	60	
雑誌	論文標題 ^{GB}									
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}							
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		

欧文概要^{EZ}

As shown by the evolutionary acquisition of mitochondria and chloroplasts, endosymbiosis is a primary force in eukaryotic cell evolution. However, the mechanisms that control the establishment of endosymbiosis between different eukaryotic cells are not well known. Using pulse-label of the alga-free *Paramecium bursaria* with the isolated symbiotic algae and chase method, we found that the algal reinfection process is consisted of the following 4 processes

- (1) Some algae show resistance to the host lysosomal enzymes in the digestive vacuole (DV)s even if the digested ones are coexisted.
- (2) The alga starts to leave from the DV to appear in the cytoplasm by budding of the DV membrane.
- (3) The vacuole enclosing a single green alga differentiates into the PV from the DV, which provides protection from the host lysosomal fusion.
- (4) After that, the alga localizes beneath the host cell cortex by an affinity of the PV to unknown structures of the host *Paramecium*.

The purpose of this study is elucidation of the molecular mechanisms that relates to the above 4 processes.

The following results were obtained.

- 1) Monoclonal antibody against trichocyst, basal body, and mitochondria were obtained.
- 2) Dynamin was involved in the appearance of the symbiotic alga by budding of the DV membrane.
- 3) Timing of the initiation of algal cell division during early algal reinfection process was clarified.
- 4) It was clarified that symbiotic algae of *P. bursaria* are difficult to localize at the anterior cortex and that they are easy to remove from the area.
- 5) In order to elucidate the molecular mechanism of endosymbiosis establishment, gene expressions obtained by transcriptome analyses in alga-free and algae-bearing *Paramecium bursaria* cells was compared.