

ミドリゾウリムシの高温耐性は共生藻に依存しない

下村 亜祐美, 細谷 浩史 (広島大・院理・生物科学)

Thermal tolerance in *Paramecium bursaria* does not depend on the presence of symbiotic algae

Ayumi SHIMOMURA and Hiroshi HOSOYA

(Department of Biological Science, Graduate School of Science, Hiroshima University)

SUMMARY

The ciliate *Paramecium bursaria* has several hundred endosymbiotic algae. It is known to be highly tolerant against oxidative stress (Kawano *et al.*, 2004). This tolerance might be important for the ciliate to have many symbiotic algae in the cytoplasm. To elucidate the symbiotic mechanism of *P. bursaria* with symbiotic algae, we investigated the tolerance against environmental stress of other kinds, such as high temperature, in *P. bursaria* and other *Paramecium* species (*P. caudatum*, *P. tetraurelia*, *P. trichium*, *P. multinucleatum*, and *P. jenningsi*). Our data obtained here revealed that *P. bursaria* is strongly tolerant against high temperature compared with other *Paramecium* species and that the tolerance is not dependent on the symbiotic algae. These results suggest that high tolerance against environmental stress is important for *P. bursaria* but not other *Paramecium* species to keep many symbiotic algae in the cytoplasm.

[目的] *P. bursaria* (ミドリゾウリムシ) の体内には、数百個のクロレラに類似の共生藻が共生している。共生藻と共生関係を築く事ができるゾウリムシ属は *P. bursaria* だけであり、なぜ *P. bursaria* だけが共生関係を築けるのか、その具体的メカニズムは解明されていない。我々は、他のゾウリムシ属 (*P. caudatum*, *P. trichium*) と比べ *P. bursaria* は活性酸素に対する耐性が高いこと、この耐性は共生藻の有無に依存しない事を以前報告している (Kawano *et al.*, 2004)。活性酸素は共生藻の光合成により産生されるため、活性酸素に対する *P. bursaria* の耐性が高いことは共生藻が *P. bursaria* に共生する上で好都合である。今回我々は、*P. bursaria* が活性酸素以外のストレス対しても他のゾウリムシ属に比べ高い耐性を示すのではないかと考え、*P. bursaria* の高温に対する耐性に関して様々な検討を行った。

[方法] 培養：各種ゾウリムシ (*P. bursaria*, *P. caudatum*, *P. tetraurelia*, *P. multinucleatum*, *P. trichium*, *P. jenningsi*) の培養にはレタス浸出液を用い、餌には *Klebsiella pneumoniae* を使用した。また、培養温度は 23°C とし、光条件は 12 時間明期、12 時間暗期とした。実験には定常期初期の細胞を用いた。共生藻を除去した *P. bursaria* は、Paraquat を用いて作製した (Hosoya *et al.*, 1995)。

高温処理：試験管に各種ゾウリムシを含む培養液 500 μ l を入れ、様々な温度に設定したウォーターバスに浸すことで温度処理を行った。温度処理時間は 1 h とした。温度処理後顕微鏡で細胞の観察を行い、生存率を求めた。また、各温度での生

存率から半数致死温度を算出し、各種ゾウリムシ属間で比較した。

各種ゾウリムシのサイズの測定：各種ゾウリムシを、2% paraformaldehyde で 20 min 固定後 PBS で 3 回 wash し、スライドガラスにのせ、顕微鏡観察を行って各種ゾウリムシの縦幅や横幅などのサイズの測定を行なった。

[結果] 共生藻をもつ *P. bursaria* と共生藻を除去した *P. bursaria* との間で、高温耐性を比較した。高温処理時間を 1 h とした時、共生藻をもつ *P. bursaria* では半数致死温度が 40.7°C であった。一方、共生藻を除去した *P. bursaria* では半数致死温度が 40.3°C であり、共生藻の有無によって高温耐性に大きな差は見られなかった。

他種のゾウリムシ (*P. caudatum*, *P. tetraurelia*, *P. trichium*, *P. multinucleatum*, *P. jenningsi*) でも同様の実験を行い、半数致死温度を *P. bursaria* と比較した。その結果、*P. bursaria* が最も耐性があること、その他のゾウリムシでは *P. multinucleatum*, *P. caudatum*, *P. tetraurelia*, *P. jenningsi*, *P. trichium* の順に耐性を示すことが分かった。また、各種ゾウリムシの半数致死温度をそれらのサイズ (縦幅や横幅、表面積等) 従ってプロットし比較したところ、*P. bursaria* 以外の各種ゾウリムシでは細胞のサイズに比例して半数致死温度が上昇した。しかし、*P. bursaria* では、細胞のサイズは他種のゾウリムシの中間に位置するものの、その耐性温度は共生藻を持つものと持たないものに関わらず極めて高いことが明らかになった。

[考察] 従来、共生藻を持つ *P. bursaria* は持たない *P. bursaria* に比べ高い温度耐性を示すと報告されていた (Iwatsuki *et al.*, 1998)。しかし、今回の我々の実験では、共生藻を除去した *P. bursaria* と共生藻を持たない *P. bursaria* との間で高温耐性にほとんど差が見られなかった。また、*P. bursaria* が、他種のゾウリムシと比べ高温に対する高い耐性を示すことが示された。このことから、*P. bursaria* 自身が活性酸素だけでなく高温によるストレスにも高い耐性を持っている事が明らかになった。今後はミドリゾウリムシ高温耐性をもたらす物質を、タンパク質レ

ベルで解析を行っていく予定である。

[文献]

- 1) Kawamo, T., Kadono, T., Kosaka T. and Hosoya, H. (2004) *Z. Naturforsch*, 59, 538-542.
- 2) Hosoya, H., Kimura, K., Matsuda, S., Kimura, M., Takahashi, T. and Kosaka, T. (1995) *Zool. Sci.*, 12, 807-810.
- 3) Iwatsuki, K., Nishidoi, M. and Suehiro, K. (1998) *Comparative Biochemistry and Physiology*, 121, 405-409.