科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 30 年 6 月 2 7 日現在

機関番号: 13701 研究種目: 挑戦的萌芽研究 研究期間: 2016~2017

課題番号: 16K14809

研究課題名(和文)メタゲノム解析と化学生態学からみた"花-酵母-昆虫 三者共生仮説"の検証

研究課題名(英文) Verification of the hypothesis of the 'Tripartite Symbiosis' among Flower-Yeast and insect, by using metagenomics and chemical ecology.

研究代表者

鈴木 徹 (Suzuki, Tohru)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号:20235972

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文): 我々は、酵母が生産する香気成分が昆虫の誘因に重要な役割を果たしており、花酵母 昆虫 の間で三者共生が成立していると仮説した。今回は、化学共生の立場からと、メタゲノム解析の立場からこれを検証を試みた。 酵母の、rRNA D1-D2領域、Saccharomyces cervisiaeについては、6つのマイクロサテライト、花に関してはRubisco遺伝子rbcL、昆虫に関しては、ミトコンドリアのチトクロムC酸化酵素サブユニットI (COI)遺伝子をターゲットに、マルチプレックスPCRの方法を確立した。次世代シーケンサを用い同時に384検体の植物の標品から、酵母、植物、昆虫の同時同定を可能にした。

研究成果の概要(英文): The aromatic components produced by yeasts should play important roles in insects induction. We hypothesized that 'a tripartite symbiosis' has been established among flower - yeast - insects. In this study, we tried to verify this hypothesis from the standpoints of chemical symbiosis and metagenome analysis.

For yeast, rRNA D1 - D2 region, Saccharomyces cerevisiae, six microsatellites, Rubisco gene rbcL for flowers, insects for mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) gene as the target, multiplex PCR Established the method. Simultaneous identification of yeasts, plants, insects was made possible from samples of 384 samples of plants at the same time.

研究分野:生物学

キーワード: insect yeast flower metagenome chemical ecology

1.研究開始当初の背景

植物は昆虫に蜜を与えることにより昆虫 に栄養を与え、その際昆虫は植物の花粉を 運搬することにより昆虫に利益を与える。 この関係が成立するためには、はじめに昆 虫が植物に誘引されることが必須である。 そのため、花は独特の形態と色といった視 覚情報とともに様々な香気成分を生産して いる。一方、花の蜜には必ず酵母が生育し ている。他の多くの環境微生物とは異なり 酵母は多糖を分解できない。植物の生産す る花の蜜、果樹、樹液は、酵母が自然界で 増殖可能な貴重なニッチを提供している。 酵母は、単糖、二糖類を代謝し自らが生育 するために必要な有機酸、アミノ酸、エネ ルギーを獲得するとともに、その生育に不 必要な香気成分を生産するが、同時に様々 な香気成分を生産していることが知られて いる。また、予備的な検討から、花ごとに 生育している酵母が、株レベルで異なって いることが示されている。我々は、酵母が 生産する香気成分が昆虫の誘因に重要な役 割を果たしており、花―酵母―昆虫 の間で 三者共生が成立していると仮説した。

2.研究の目的

我々は、酵母が生産する香気成分が昆虫の

誘因に重要な役割を果たしており、花 酵母 昆虫 の間で三者共生がしているという仮 説を検証するため、花のサンプルから、DNA を抽出し、次世代シーケンサを用いて、植物、 昆虫、酵母、乳酸菌を同定する方法を開発す るとともに、化学生体学的方法で、昆虫の誘 因が、微生物種で決定されているか否かを検 証する。

3.研究の方法

花、果皮から得たサンプルをジルコニアビーズ破砕法で粉砕し、フェノール・クロロホルム法で DNA を抽出し、各種 PCR プライマーを用いて、種同定領域をマルチプレックス法で増幅した。

これらを、次世代シーケンサを用いて、植 物、昆虫、酵母、乳酸菌の同定を行った。

4.研究成果

酵母の、rRNA D1-D2 領域、Saccharomyces cervisiae については、6つのマイクロサテライト、花に関しては Rubisco 遺伝子 rbcL、昆虫に関しては、ミトコンドリアのチトクロム C 酸化酵素サブユニット I (COI)遺伝子をターゲットに、マルチプレックス PCR の方法を確立した。これらを用い同時に 384 検体の植物の標品から、酵母、植物、昆虫の同時同定を可能にした。

出願状況(計 0 件)

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Nagano H, Inoue, Inoue-Murayama,
<u>Suzuki T</u> (2008) Microsatellite
analysis of Saccharomyces cerevisiae
in cooked bread. Food Analytical
Methods, 11(6) 1757-1762.

[学会発表](計 2 件)

- 長野宏子、井上英治、井上-村山美穂、<u>鈴</u> 木徹 (2017) パンの世界地図-パン酵母 Saccharomyces cerevisiae の多型解析 からみるパンの多様性-,日本 DNA 多型 学会 (東京),
- 2. <u>鈴木 徹</u>、<u>岡本 朋子</u>, (2017) メタゲノム 解析と化学生態学からみた "花-酵母-昆虫 三者共生仮説" パン・シンポジウ ム(岐阜).

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

本学教員が「日本 DNA 多型学会優秀研究賞」

を受賞しました

https://www.gifu-u.ac.jp/news/news/2018

/02/entry07-5903.html

6. 研究組織
(1)研究代表者
鈴木 徹
(岐阜大学・応用生物科学部・教授)
研究者番号: 20235972
(2)研究分担者
岡本 朋子
(岐阜大学・応用生物科学部・助教)
研究者番号:50588150
(3)連携研究者
()
研究者番号:
(4)研究協力者
()