

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05673

研究課題名(和文)コナジラミ類の複合共生系に見られる”菌細胞内棲み分け”の多様性と形成機構の解析

研究課題名(英文) Diversity and mechanisms underlying "subcellular niche segregation" of symbionts in whiteflies

研究代表者

土田 努 (TSUCHIDA, Tsutomu)

富山大学・学術研究部理学系・准教授

研究者番号：60513398

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：タバココナジラミの菌細胞内には、宿主の生存や繁殖に必須の役割を担う、2種類の共生細菌が同一細胞内の異なる空間に棲み分けていることが知られていた。本課題では、コナジラミ類における”細胞内棲み分け”の機構や、一般性や進化を明らかにすることを試みた。イメージング解析により、菌細胞内棲み分けは、小胞体を介して行われていることが示された。また、近縁種を対象とした解析により、菌細胞内棲み分けはコナジラミに広く存在しているが、内部の共生細菌は度々置き換わっていることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの昆虫では、その体内に、生存や繁殖の役割を担う必須の共生細菌を複数種棲まわしていることが知られている。しかし、これらの細菌は昆虫の別々の細胞や組織に収納されているのが一般的であり、同一細胞内での棲み分けという現象は従来まったく知られていなかった。本解析で明らかになった発見は、微生物の生態や共生の進化の理解に新たな観点を提示するものである。

研究成果の概要(英文)：In bacteriocytes of the whitefly, two symbiotic bacteria are coexisted in the same bacteriocyte. They must play an essential role in the host survival and reproduction, but mechanisms for "subcellular niche segregation" of the bacteria were totally unknown. In this project, we attempted to elucidate the mechanism and to clarify the generality and evolution of the 'subcellular niche segregation' in whiteflies.

Imaging analyses revealed that the two symbionts were separated by endoplasmic reticulum within the bacteriocyte. In earlier divergent phylogenetic groups, subcellular niche segregation between *Portiera* and *Arsenophonus* was observed. On the other hand, in the relatively recently diverged phylogenetic groups, two types of subcellular niche segregation (*Portiera* and *Hamiltonella*, or *Portiera* and *Rickettsia*) was detected. These findings suggest that replacement of the symbiotic bacteria have occurred repeatedly in whiteflies over a relatively short time interval.

研究分野：共生生物学

キーワード：コナジラミ 菌細胞 共生細菌 棲み分け

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生物がその体内に微生物を(半)恒久的に生息させる“内部共生”は、微生物のもつ特殊かつ効率のよい代謝系を丸ごと取り込む現象であり、環境適応や生物進化において極めて重要な役割を担ってきた。多くの昆虫では、体内の“菌細胞”と呼ばれる共生専用の細胞に、宿主の餌に不足する必須アミノ酸等を合成・供給する共生細菌が存在する。申請者らは、タバココナジラミ体内に存在する2種類の必須共生細菌が、1) 同一の菌細胞内で小胞体膜を介して棲み分けを行っており、2) 必須アミノ酸の中間代謝産物をお互いに授受しあいながら必須アミノ酸を合成していることを見出した。本課題では、コナジラミ類における細胞内棲み分けの一般性を検証し、棲み分けに関する宿主側および共生細菌側の機構を明らかにすることを試みた。

### 2. 研究の目的

本研究では、コナジラミ類に存在する多様な複合共生系を研究対象として、細胞内棲み分けの一般性を検証する。本研究課題の遂行からは、微生物のマイクロハビタット内での局在様式や、異なる生物をまたぐ複雑な代謝経路の形成や進化などの重要知見が得られることが想定される。

### 3. 研究の方法

タバココナジラミ複合種群に属する様々な種をはじめ、様々なコナジラミ類を採集した。その共生細菌感染状況を、診断PCR法や真正細菌16S ribosomal RNA遺伝子配列を解読することで確認した。共生細菌の局在については、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを用いて確認した。

### 4. 研究成果

多くのコナジラミ類において、必須の共生細菌 *Portiera* に加えて、*Arsenophonus* が存在していることが確認された。*Portiera* の局在が菌細胞内に限定されているのに対し、*Arsenophonus* の局在は種ごとに大きく異なり、オンシツコナジラミのように菌細胞内で *Portiera* と共存して細胞内棲み分けを起こしているものや、ソウリンコナジラミのように菌細胞外に密集して存在しているものなど様々であった。タバココナジラミ複合種群において、早くに分岐した系統群では、菌細胞内に *Portiera* と *Arsenophonus* から成る棲み分けが確認された。一方、タバココナジラミ複合種群内で比較的最近に分岐した系統群である MEAM1 および MED Q1 では、共生細菌 *Portiera* と *Hamiltonella* による菌細胞内の棲み分けが確認された。即ち、コナジラミ類においては、*Portiera* と *Arsenophonus* から成る複合共生系が広く存在しており、タバココナジラミが分岐する以前からこれらの共生細菌を有する菌細胞内棲み分けが生じていたことが示唆された。タバココナジラミ複合種群内においては、菌細胞内の細菌が *Arsenophonus* から *Hamiltonella* へと置換されるイベントが生じたことが示唆された。一方、タバココナジラミ複合種群内で比較的最近分岐し、ヨーロッパやアメリカ等で生息域が拡大している系統である MED Q2 の共生細菌叢には、*Hamiltonella* は検出されなかった。MED Q2 を、栃木県や茨城県、埼玉県、群馬県の個体群から調査したところ、全個体から必須共生細菌の *Portiera* に加えて *Rickettsia* が検出された。*Portiera* については、必須アミノ酸合成酵素に偏りがあり、単独では必須アミノ酸を完全に供給することができないことが先行研究により、報告されている。このことから *Rickettsia* が MED Q2 の必須アミノ酸の補完的供給に寄与しているものと考えられた。FISH を用いた解析により、菌細胞内には *Portiera* のみが観察され、菌細胞の外側に隣接する状態で *Rickettsia* が検

出された。即ち、MED Q2 においては、タバココナジラミ複合種郡内で共通して見られる菌細胞内棲み分けが存在しないことが示された。これらのことから、共生細菌の置換や共生様式は、コナジラミにおいては早い時間間隔で繰り返し生じてきたことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Akiko Fujiwara, Xian-Ying Meng, Yoichi Kamagata, Tsutomu Tsuchida	4. 巻 11
2. 論文標題 Subcellular Niche Segregation of Co-Obligate Symbionts in Whiteflies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 e04684-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.04684-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 秋原 大樹、土本 舞子、土`田 努、藤原 亜希子
2. 発表標題 日本におけるタバココナジラミ新規侵入系統MED Q2の内部共生系およびTYLCV媒介能
3. 学会等名 第66回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉崎菜林・藤原 亜希子、上宮 健吉、土`田 努
2. 発表標題 コナジラミ類に見られる菌細胞内棲み分けの一般性の検証
3. 学会等名 日本進化学会 第21回札幌大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiko Fujiwara, Tsutomu Tsuchida
2. 発表標題 Multiple endosymbiotic systems in whiteflies: a potential target for the notorious pest control
3. 学会等名 Current Topics in Symbiosis and Parasitism
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤原 亜希子・吉崎 茉林・上宮 健吉・孟 憲英・鎌形 洋一・土田 努
2. 発表標題 親しき仲にも礼儀あり タバココナジラミで進化した菌細胞内の棲み分けシステム
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	藤原 亜希子  (Fujiwara Akiko)  (90726720)	群馬大学・食健康科学教育研究センター・講師    (12301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------