

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19380055

研究課題名（和文）シロアリ腸内の原生生物と細胞共生細菌の代謝共生機構の解明

研究課題名（英文）Symbioses of flagellates and bacteria in the gut of termites

研究代表者

大熊 盛也 (OHKUMA MORIYA)

独立行政法人理化学研究所・微生物材料開発室・室長

研究者番号：10270597

研究代表者の専門分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：共生、細胞内共生細菌、原生生物、難培養微生物、シロアリ、微生物ゲノム、窒素固定、セルロース利用

### 1. 研究計画の概要

シロアリ腸内に高密度で生息する原生生物（単細胞の真核生物）と腸内細菌の大半を占める原生生物の細胞共生細菌は、腸内全体の代謝のほとんどを担うと考えられ、これらの細胞レベルでの共生機構を解明し、シロアリ共生微生物群によるバイオマス資源の効率的な利用について理解する。

### 2. 研究の進捗状況

セルロース分解に重要な原生生物であるヤマトシロアリの *Trichonympha agilis* やイエシロアリの *Pseudotriconympha grassii* の細胞内共生細菌を原生生物1細胞から単離して、全ゲノム増幅後に完全ゲノムを解読した。前者の細胞内共生細菌は未培養新門 Termite Group 1 に属するものであり、後者は Bacteroidales 目の細菌で、いずれも宿主原生生物と（後者は宿主シロアリとの3者の関係でも）共種分化してきたものである。どちらのゲノムとも縮小進化過程にあると考えられたが、多くのアミノ酸・ビタミン類合成系遺伝子群が維持されており、後者では窒素固定遺伝子群も見られた。シロアリが摂食する枯死材は窒素源に乏しく、これら細胞内共生細菌は必須の窒素栄養化合物を供給する役割を果たすと考えられた。

*P. grassii* から鉄型ヒドロゲナーゼ遺伝子とその酵素を解析し、細胞分画も行って細胞内小器官ヒドロゲノソームにおいて高い水素生成能を解明した。一方でゲノムには典型的

なヒドロゲナーゼ相同遺伝子は認められなかったが、細胞内共生細菌に高い水素取込み活性を検出し、生成した水素を効率的に利用して原生生物のセルロース分解を促進する共生関係も推定した。また、*T. agilis* にはいわゆる硫酸還元細菌である *Desulfovibrio* 属の細菌も細胞内共生しており、宿主原生生物のヒドロゲノソームの密集した近辺に局在しており、ここでも水素の利用性が推定された。実際にこの細菌は水素利用と硫酸還元に関与する遺伝子群を発現させて潜在的な活性を有していたが、シロアリ腸内の硫酸塩濃度は低く、水素利用のための他の電子受容体の関与が示唆された。

原生生物細胞における細菌との共生は、複数種の細菌が関わるより複雑なものであり、窒素栄養源ばかりでなく水素の授受という代謝上多面的な共生関係と考えられた。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

細胞内共生細菌の完全ゲノムを解読したことにより未知の共生機構を解明したことは特筆すべき成果である。ゲノムから（結果的には）推定が困難であった水素を介した共生関係も相補的な生化学的手法で明らかにできた点も順調な進展状況と考えられる。一方で、電子受容体の解明に至らず今後の課題となった。

#### 4. 今後の研究の推進方策

宿主原生生物についての代謝上の特徴としてこれまでに水素生成能を明らかにしたが、セルロース分解から水素生成に至る代謝について、主に EST 解析による発現遺伝子の情報に基づいて解明し、効率的なセルロース資源の利用機構について理解する。これにより推定される代謝中間体について、共生細菌の水素利用における電子受容体の可能性も検討する。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 26 件)

① Sato, T., Y. Hongoh, S. Noda, S. Hattori, S. Ui, and M. Ohkuma. 2009. *Candidatus Desulfovibrio trichonymphae*, a novel intracellular symbiont of the flagellate *Trichonympha agilis* in termite gut. *Environ. Microbiol.* 11:1007-1015. 査読有

② Ohkuma, M. 2008. Symbioses of flagellates and prokaryotes in the gut of lower termites. *Trends Microbiol.* 16: 345-352. 査読有

③ Hongoh, Y., V. K. Sharma, T. Prakash, S. Noda, H. Toh, T. D. Taylor, T. Kudo, Y. Sakaki, A. Toyoda, M. Hattori, and M. Ohkuma. 2008. Genome of an endosymbiont coupling N<sub>2</sub> fixation to cellulolysis within protist cells in termite gut. *Science* 322: 1108-1109. 査読有

④ Hongoh, Y., V. K. Sharma, T. Prakash, S. Noda, T. D. Taylor, T. Kudo, Y. Sakaki, A. Toyoda, M. Hattori, and M. Ohkuma. 2008. Complete genome of the uncultured Termite

Group 1 bacteria in a single host protist cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 5555-5560. 査読有

⑤ Noda, S., O. Kitade, T. Inoue, M. Kawai, M. Kanuka, K. Hiroshima, Y. Hongoh, R. Constantino, V. Uys, J.-H. Zhong, T. Kudo, and M. Ohkuma. 2007. Cospeciation in the triplex symbiosis of termite gut protists (*Pseudotrichonympha* spp.), their hosts, and their bacterial endosymbionts. *Mol. Ecol.* 16: 1257-1266. 査読有

[学会発表] (計 12 件)

(招待講演のみ、国際会議 4 件、国内学会 8 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

2008 年 11 月プレスリリース「シロアリの強力な木質分解能を支える 驚異の腸内共生機構を解明」

これを受けて New York Times、International Herald Tribune、The Boston Globe、読売新聞、科学新聞社、共同通信などが紹介記事を掲載した。

2008 年 4 月プレスリリース「シロアリ腸内微生物のゲノム解読に世界で初めて成功」

これを受けて日経 BP、時事通信などが紹介記事を掲載した。