

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：82670

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03053

研究課題名(和文) 木材腐朽菌由来の誘引物質(匂い)に対応するイエシロアリ嗅覚受容体の特定

研究課題名(英文) Identification of termites *Coptotermes formosanus* olfactory receptors to MVOC from wood-rotting fungi

研究代表者

小沼 ルミ (KONUMA, RUMI)

地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・技術支援本部地域技術支援部食品技術センター・上席研究員

研究者番号：90463075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：木材の2大生物劣化原因である「木材腐朽菌」と「シロアリ」は、しばしば木材中で両者が共存する場合が多くみられるため、「木材腐朽菌がシロアリの誘引しているのではないか」といった仮説が長らく提案されてきた。そこで本研究では、イエシロアリのゲノム情報を利用して、イエシロアリ誘引性のMVOCに対応する嗅覚受容体を見出すことで、その誘引物質の認識メカニズムを解明し、「木材腐朽菌がシロアリを呼ぶ」という仮説を立証することを目指した。その結果、腐朽菌の生産するMVOCに関する詳細な情報とともに、シロアリの嗅覚受容体に関する情報を得ることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シロアリと木材腐朽菌は木材の2大生物劣化原因であり、それにより引き起こされる木材劣化被害は甚大である。多くの場合、これらの劣化はそれぞれ別々のものとして議論されてきたが、その一方で、腐朽材にはシロアリが存在することも多く、それらがお互いに関連しているとも考えられている。本課題において、腐朽菌とシロアリ両者の関連性を明らかにするためのいくつかの基盤情報が得られたことは、両者の間の生態学的な観点への貢献のみならず、材の劣化防止策を考える上での新しいターゲットを提案するものでもある。

研究成果の概要(英文)：Since wood rotting fungi and termites are two major causes of wood deterioration and often coexist in wood, the hypothesis that wood rotting fungi may attract termites has long been proposed. In this study, we used the termite genome information to find olfactory receptors corresponding to MVOCs, which are termite attractants, in order to elucidate the recognition mechanism of the attractants and to substantiate the hypothesis that wood rotting fungi attract termites. As a result, we succeeded in obtaining detailed information on the MVOCs produced by wood rotting fungi as well as information on the olfactory receptors of termites. This study not only contributes to the ecological perspective between wood rotting fungi and termites, but also proposes a new target to consider for measures to prevent wood deterioration.

研究分野：木材保存学

キーワード：シロアリ 木材腐朽菌 MVOC

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

木材は適切な条件のもとで使用され、さらに定期的に適切な管理・メンテナンスを施せば極めて長い耐用年数を示すことができる材料である。その一方で、木材はその使用期間中を通じて、生物による劣化、特に真菌類が引き起こす「腐朽」とシロアリによる「食害(蟻害)」のリスクに常に晒されている。従来、これらの劣化はそれぞれ独立して研究が進んできているものがほとんどであり、したがって、腐朽と蟻害についての詳細なメカニズムについてもそれぞれ別々のものとして情報が蓄積されている。その一方で、腐朽と蟻害については、同所的に存在することも多く、さらにはそれらの引き起こす劣化が同時に進行する場合も散見されるため、これらのことを考慮すると、生育場所を等しくする木材腐朽菌とシロアリの間に何らかの相互作用が生じている可能性は大いに考えられる。事実、伝聞的に「木材腐朽菌がシロアリを誘引しているのではないか」とさえ云われてきた。また実際の研究においても、シロアリの中には腐朽木材を好んで摂食する種が存在することや、キチリメンタケがミズガシラシロアリ科のシロアリが持つ‘道しるべフェロモン’と同じ物質((Z,Z,E)-3,6,8-dodecatrien-1-ol)を代謝することなどが知られており、このことは、腐朽材あるいは菌糸体によるシロアリ誘引効果が存在していることを示唆するものである。

本研究では、上記の腐朽菌によるシロアリ誘引効果を示す候補物質として、微生物の代謝に伴って放散される揮発性有機化合物(MVOC; Microbial Volatile Organic Compounds)に着目した。MVOCは、単なる代謝の副産物として放散されるだけでなく、生物間相互作用に関わる機能を持つものが知られている。申請者らのこれまでに実施した研究において、木材腐朽菌が菌種、培養基質、培養日数および腐朽の程度によって特徴的なMVOC成分を放散することを突き止めている。また、MVOCを介した生物間相互作用として、木材腐朽菌由来のMVOCの中からイエシロアリを誘引すると思われるMVOC成分(以後、誘引性MVOCとする)の候補を特定することに成功している。

2. 研究の目的

「1. 研究開始当初の背景」に記載した背景を踏まえ、本課題では木材腐朽菌とシロアリ間での生物間相互作用に関する情報を得るために、腐朽菌がシロアリの誘引物質としてMVOCを用いているという仮説の元、その詳細なメカニズムに関する情報を得るべく研究を実施した。具体的には、以下の2点に取り組んだ。

- [1] これまでの研究において我々が見出したイエシロアリを誘引すると思われる誘引性MVOCが、どれだけの範囲の木材腐朽菌種により放散されるものかについて明らかにする
- [2] シロアリが有する嗅覚受容体に関する情報を得る

前者については、これまでに実施されてきた研究において、木材腐朽菌が木材を腐朽する過程でMVOCを放散することは知られてきており、それらの化合物についても同定が進んできている。そのような中で、我々の研究において、シロアリを誘引すると思われる誘引性MVOCを見出した。事実、このMVOCをシロアリに暴露することで、シロアリが誘引されることを明らかにしている。シロアリとの同所的共存は限られた木材腐朽菌で見られる現象ではなく、選択性が低く、広範囲の木材腐朽菌で見られることから、この誘引性MVOCが多数の木材腐朽菌種で放散されるものか、ある種の菌種に特異的な現象かを明らかにするため、その誘引性MVOCがどのような木材腐朽菌において生産されるか、その情報を得ることを目的とした。

一方、後者については、これまでのさまざまな生物種を対象とした研究において、揮発性の化合物の認識には嗅覚受容体が関与していることが報告されていることに着目し、シロアリのモデルとしてイエシロアリを用いて、イエシロアリの保有するMVOCの認識に関わる受容体(すなわち、嗅覚受容体)を見出すことで、イエシロアリを誘引する木材腐朽菌由来のMVOC成分に対応する嗅覚受容体を特定することを目的とした。

3. 研究の方法

[複数の木材腐朽菌における誘引性MVOC生産に関する調査]

木材腐朽菌として、オオウズラタケ(*Fomitopsis palustris*)、マツホド(*Wolfiporia cocos*)、キチリメンタケ(*Gloeophyllum trabeum*)、イドタケ(*Coniophora puteana*)およびナミダタケ(*Serpula lacrymans*)の計5種類を用いた。これらの菌を寒天培地上を覆うまで培養し、その後、菌糸の上にオートクレーブ滅菌したプラスチック製の網を設置した。この上に、脱脂したスギ辺材片を設置し、そのまま静置することで、木材を腐朽させた。この腐朽進行時の気層について、ヘッドスペース固相マイクロ抽出ガスクロマトグラフィー質量分析装置により分析した。

[シロアリが有する化学感覚に関与する遺伝子の特定]

ショウジョウバエの遺伝子およびゲノムデータベースであるFly Base(<https://flybase.org/>)を用いて、各種化学感覚受容体および関連タンパク質のGene Groupを検索した。National Center

for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) から、それぞれの受容体および関連タンパク質のアミノ酸配列を取得し、Gene Group ごとのデータベースを作成した。イエシロアリの予測遺伝子配列をクエリとして、データベースを元にした blast 検索を行った。

[シロアリの頭部を対象とした網羅的遺伝子発現解析]

イエシロアリの職蟻 200 頭をガラス製シャーレ (φ90×20 mm) に入れ、同シャーレ内に刺激源として誘引性 MVOC を含浸した濾紙を設置し、25°C、暗所で 3 時間静置した。その後、シロアリの頭部を回収し、液体窒素で凍結した。100 頭分の頭部を 1 本のエッペンチューブにまとめ、RNeasy Mini Kit を用いて、プロトコルに従って total RNA を抽出した。抽出した RNA は、NovaSeq 6000 を用いたストランド特異的 RNA-seq に供した。

[シロアリの触覚を対象とした網羅的遺伝子発現解析]

イエシロアリの職蟻 100 頭をガラス製シャーレ (φ260×70 mm) に入れ、同シャーレに刺激源として誘引性 MVOC を含浸した濾紙を設置し、室温で 15 分静置した。15 分後に刺激源の近くに誘引されたイエシロアリを回収し、液体窒素で凍結した後、触角を回収し、触覚 300 対を 1 本のエッペンチューブにまとめ、RNeasy Mini Kit を用いて、プロトコルに従って total RNA を抽出した。抽出した RNA は、NovaSeq 6000 を用いたストランド特異的 RNA-seq に供した。

4. 研究成果

[複数の木材腐朽菌における誘引性 MVOC 生産に関する知見]

オオズラタケ (*Fomitopsis palustris*)、マツホド (*Wolfiporia cocos*)、キチリメンタケ (*Gloeophyllum trabeum*)、イドタケ (*Coniophora puteana*) およびナミダタケ (*Serpula lacrymans*) それぞれの腐朽過程における誘引性 MVOC 生産挙動を調査した結果、試験した全ての菌において誘引性 MVOC が検出された。今回調査した木材腐朽菌類は全て担子菌に属するものであるが、この誘引性 MVOC は子のう菌を対象とした研究でも、その生産が比較的多く報告されていることから、この誘引性 MVOC は広範囲の木材腐朽菌が生産するとともに、広範囲の真菌類によって生産されるものであると予想された。

また、今回調査した木材腐朽菌については、その誘引性 MVOC の生産パターンを調査した。すなわち、培養日数 3 日、7 日、14 日目にそれぞれ MVOC を調査した。その結果、この誘引性 MVOC の生産性は培養日数によって変化することが明らかとなった。また、その培養日数に応じた誘引性 MVOC の生産パターンは木材腐朽菌の種類により異なっており、例えば、*Fomitopsis palustris* や *Wolfiporia cocos* などでは、培養 3 日目にはその生産はほとんど見られず、培養日数 7 日目から 14 日目にかけて生産性が高まっていた。その一方で、*Gloeophyllum trabeum* においては全く逆のレスポンスが観察され、培養日数 3 日目において誘引性 MVOC の生産性が高く、培養日数 7 日目から 14 日目にかけてはほとんど検出されなかった。さらに、*Coniophora puteana* および *Serpula lacrymans* ではその生産性はいずれも低かった。*Fomitopsis palustris* や *Wolfiporia cocos* は Polyporales に属する一方で、*Gloeophyllum trabeum* は Gloeophyllales に属する。さらに、*Coniophora puteana* および *Serpula lacrymans* は Boletales に属する。このような分類学的な観点を考慮すると、上述のような生産パターンの差異は分類群による特徴を反映している可能性もあるが、現時点ではそれを確実にするほどのサンプル数に達しているとは言えないことから、これについては更なる多くの菌種を調査する必要がある。

[シロアリが有する化学感覚に関与する遺伝子についての知見]

イエシロアリのゲノム情報において、34 個の推定嗅覚受容体遺伝子、30 個の推定味覚受容体遺伝子、109 個の推定イオントロピック型化学受容体遺伝子、5 個の推定匂結合タンパク質遺伝子が見出された。これらの遺伝子についてはあくまでアミノ酸配列の相同性に基づく予測であるため、それらの機能を特定するためには、タンパク質の機能解析や遺伝子ターゲティングなどの解析が必要である。

[シロアリの頭部と触覚における網羅的遺伝子発現解析で得られた知見]

$q\text{-value} \leq 0.05$ 、 $\text{fold change} \geq 2$ または ≤ 0.5 を基準として、頭部で発現している全遺伝子から発現変動遺伝子を抽出した。その結果、イエシロアリの全遺伝子と予測された 12,984 個の遺伝子のうち、変動した遺伝子数はごくわずかであった。すなわち、今回の実験条件では頭部で発現する遺伝子のほとんどが発現変動していないと考えられた。その理由として、誘引性 MVOC に反応して発現変動する遺伝子の多くが触覚特異的であり、頭部の非変動遺伝子のベースラインにより検出できなくなっている可能性があると考え、触角を対象とした遺伝子発現解析を実施したが、顕著な発現変動遺伝子の増加は観察されなかった。実際のシロアリの誘引と遺伝子発現とのタイムラグなどの影響でこのような結果になった可能性もあるものの、この遺伝子発現解析に供したシロアリは、誘引性 MVOC を含浸した濾紙に誘引されたシロアリを用いていることを考慮すると、この誘引性 MVOC によるシロアリの誘引作用は遺伝子発現レベルとは別の階層での制御を受けている可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 HORIKAWA Shoko, KONDO Risako, UMEZAWA Kiwamu, SASAKI Naori, KONUMA Rumi, ANDO Keisuke, YOSHIDA Makoto	4. 巻 46
2. 論文標題 Diversity of microbial volatile organic compounds produced by various brown-rot fungi during wood decay process	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 MOKUZAI HOZON (Wood Protection)	6. 最初と最後の頁 137 ~ 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5990/jwpa.46.137	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 -

1. 著者名 Itakura Shuji, Yoshikawa Yuya, Togami Yasuhiro, Umezawa Kiwamu	4. 巻 23
2. 論文標題 Draft genome sequence of the termite, <i>Coptotermes formosanus</i> : Genetic insights into the pyruvate dehydrogenase complex of the termite	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Asia-Pacific Entomology	6. 最初と最後の頁 666 ~ 674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aspen.2020.05.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shoko Horikawa, Rumi Konuma, Makoto Yoshida
2. 発表標題 Effect of volatile organic compounds produced by wood rotting fungi on mycelial growth
3. 学会等名 IRG 23 International Research Group on Wood Protection (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 堀川翔子, 吉田誠, 小沼ルミ
2. 発表標題 真菌類由来揮発性有機化合物の木材腐朽菌に対する生理活性に関する調査
3. 学会等名 第38回木材保存協会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀川翔子, 吉田誠, 小沼ルミ
2. 発表標題 真菌類が放散する揮発性有機化合物が有する木材腐朽菌の菌系成長に対する生物活性に関する調査
3. 学会等名 第38回木材保存協会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 戸上泰裕, 梅澤究, 板倉修司
2. 発表標題 イエシロアリのmicroRNA機能解析
3. 学会等名 第34回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 玉垣里奈, 梅澤究, 板倉修司
2. 発表標題 ヤマトシロアリのmicroRNA機能解析
3. 学会等名 第34回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 戸上泰裕, 梅澤究, 板倉修司
2. 発表標題 イエシロアリにおけるmiRNAの機能解析
3. 学会等名 第38回日本木材保存協会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 玉垣里菜, 安雲 凧, 梅澤究, 板倉修司
2. 発表標題 ヤマトシロアリ職蟻のmicroRNA機能解析
3. 学会等名 第38回日本木材保存協会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小沼ルミ
2. 発表標題 木材腐朽菌由来の揮発性有機化合物による木材腐朽検出に関する研究
3. 学会等名 第37回木材保存協会年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀川翔子, 吉田誠, 小沼ルミ
2. 発表標題 木材腐朽菌が放散する揮発性有機化合物が菌糸成長に及ぼす影響
3. 学会等名 第37回木材保存協会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shoko Horikawa, Rumi Konuma, Makoto Yoshida
2. 発表標題 Effect of MVOC exposure on mycelial growth of wood rotting fungi
3. 学会等名 The International Research Group on Wood Protection_IRG52 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀川翔子, 吉田誠, 小沼ルミ
2. 発表標題 微生物由来揮発性有機化合物が木材腐朽菌の菌糸成長に与える影響
3. 学会等名 第72回日本木材学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 戸上 泰裕, 梅澤 究, 板倉 修司
2. 発表標題 イエシロアリの職蟻とニンフにおけるmiRNA機能解析
3. 学会等名 第33回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 玉垣里菜, 安雲 凧, 梅澤 究, 板倉 修司
2. 発表標題 ヤマトシロアリ職蟻のmiRNA機能解析
3. 学会等名 第33回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小沼ルミ、吉田誠
2. 発表標題 木材腐朽菌抵抗性に関する簡易評価法
3. 学会等名 第36回日本木材保存協会オンライン年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀川翔子、吉田 誠、小沼ルミ
2. 発表標題 微生物に由来する揮発性有機化合物が木材腐朽菌の生育に及ぼす影響
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会（東京大会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戸上 泰裕, 吉川 優弥, 中西 慶磨, 梅澤 究, 板倉 修司
2. 発表標題 イエシロアリのゲノム解析
3. 学会等名 第36回日本木材保存協会オンライン年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸上 泰裕, 吉川 優弥, 梅澤 究, 板倉 修司
2. 発表標題 イエシロアリのmiRNA機能解析
3. 学会等名 第32回日本環境動物昆虫学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸上泰裕, 吉川優弥, 梅澤究, 板倉修司
2. 発表標題 イエシロアリの職蟻とニンフのmiRNA発現解析
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会（東京大会）
4. 発表年 2021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
研究分担者	大村 和香子 (Ohmura Wakako) (00343806)	京都大学・生存圏研究所・教授 (14301)	
研究分担者	吉田 誠 (Yoshida Makoto) (30447510)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	
研究分担者	板倉 修司 (Itakura Shuji) (60257988)	近畿大学・農学部・教授 (34419)	

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
---------	---------