

## PK-025

カメムシが土壌から取り込む農薬分解菌の  
正体：農薬散布時に土壌で増える菌と  
カメムシに感染する菌の系統比較

○伊藤 英臣<sup>1</sup>、青柳 智<sup>2</sup>、Ronald Navarro<sup>3</sup>、多胡 香奈子<sup>3</sup>、早津 雅仁<sup>3</sup>、堀 知行<sup>3</sup>、菊池 義智<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>産総研・生物プロセス、<sup>2</sup>産総研・環境管理技術、<sup>3</sup>農環研・生物生態機能

フェニトロチオン(MEP)は様々な害虫を駆除するために幅広く利用されている有機リン系殺虫剤であり、いくつかの土壌微生物によって分解・無毒化されることが知られている。近年我々は、ダイズの害虫のホソヘリカメムシにBurkholderia属のMEP分解菌を感染させると、その腸内共生器官に定着し、これによってホソヘリカメムシがMEP抵抗性になるというユニークな現象を発見した。MEP散布によって土壌中のMEP分解菌が増殖しカメムシに感染すると考えられるが、実際にどのような感染動態が見られるのかはほとんど分かっていない。そこで本研究ではMEPを散布した土壌でカメムシを飼育し、MEP散布より土壌で優占するMEP分解菌とカメムシに共生するMEP分解菌の系統を比較解析し、土壌-カメムシ間のMEP分解菌の動態の解明を試みた。MEP散布後経時的に土壌中のMEP分解菌を単離・同定したところ、ほとんどがBurkholderia属細菌で占められていた。さらにMiseqシーケンサーを用いて各土壌中の16S rRNA遺伝子を網羅的に解析したところ、Burkholderia属細菌に加えMethylotrophの増殖が確認された。単離されたMEP分解菌の16S rRNA遺伝子配列とMiseq解析から得られた配列を比較したところ、ある特定のBurkholderia属細菌がMEP散布に反応して増加していることが示唆された。本発表ではMEP散布土壌で飼育したホソヘリカメムシから単離されたMEP分解菌の系統についても合わせて報告し、土壌-カメムシ間のMEP分解菌の動態について考察する。

Key words: Riptortus pedestris, fenitrothion, organophosphorus insecticide, Soil microbial community

## PK-027

## シロアリ腸内原生物核内共生細菌の同定と宿主への遺伝子水平伝播

○藤田 一磨<sup>1</sup>、佐藤 朋之<sup>2</sup>、桑原 宏和<sup>3</sup>、野田 悟子<sup>2,3</sup>、大熊 盛也<sup>2</sup>、本郷 裕一<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>東工大・院生命理工、<sup>2</sup>理研BRC-JCM、<sup>3</sup>山梨大・院医工学

Kirby (1944)による発見以来、多様なシロアリ腸内原生物種において、核内共生体の存在を示す透過型電子顕微鏡(TEM)観察結果が数多く報告されてきたが、正体は未知であった。我々は、ヤマトシロアリ腸内原生物*Trichonympha agilis*の核内共生体を、SSU rRNA配列に基づき同定した。

*T. agilis* 1細胞から核を単離し、全ゲノム増幅法でDNAサンプルを調製した。PCR法で真正細菌の16S rRNA遺伝子を増幅したところ、驚くべき事に、配列解析したすべてのクローンは、Verrucomicrobia門細菌16S rRNAの偽遺伝子であり、しかも数多くの配列多型があった。単離した核のDNase処理後に同解析を行うと偽遺伝子は検出されないことから、これら偽遺伝子は、細菌細胞ではなく宿主原生物である*Trichonympha*のゲノム上に水平伝播し、その後多コピー化したことが示唆された。得られた真正な16S rRNA配列はVerrucomicrobia門に属する2新種と同定され、偽遺伝子は両種に由来していた。これら2新種を16S rRNAを標的としたFISHで特異的に検出したところ、*T. agilis*核内のみ局在し、2種が同一核内で共存する場合も多く見られた。TEM観察ではこれらは歪んだ球菌で、Kirbyのスケッチに酷似していた。両種は、データベース配列とともにシロアリ特異的な未培養単系統群を形成し、この系統群が多様なシロアリ腸内原生物種の核内共生体であることもFISHによって確認した。

本研究により、Verrucomicrobia門細菌がシロアリ腸内原生物の核内に広く共生しており、遺伝子水平伝播が宿主原生物のゲノムの進化に影響を与えていることが示唆された。

Key words: endonuclear, gut bacteria, MDA, protozoa, symbiosis  
E-mail: fujita.k.ag@m.titech.ac.jp

## PK-026

## 鯨骨域に生息する多毛類共生細菌の分離とその性状解析

○宮崎 征行<sup>1</sup>、河戸 勝<sup>1</sup>、梅津 裕一<sup>1</sup>、Florence Pradillon<sup>2</sup>、山本 智子<sup>3</sup>、藤原 義弘<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>JAMSTEC、<sup>2</sup>IFREMER、<sup>3</sup>鹿児島・水産

ホネクイハナムシ類(多毛類:Siboglinidae科、*Osedax*属)は、死後海底に沈下した鯨の骨上に生息し、鯨の骨を食べる動物として2004年にRouse et al.によりはじめて報告された。この発見後、世界各地の鯨骨域から5種の記載報告があり、形態的特徴や遺伝的な違いなどから他にも数十種存在していることが明らかになっている(Vrijenhoek et al., 2009)。ホネクイハナムシ類は菌根部と呼ばれる組織を骨の中に埋没させ、骨中の有機物を栄養として吸収していると言われている。ホネクイハナムシ類の近縁種には、硫黄細菌を体内に共生させているハオリムシ類があり、成体になると口や消化管がない等の点で類似している。しかし、ホネクイハナムシ類はハオリムシ類とは異なり、鯨骨中の有機物を分解する従属栄養細菌を体内に共生させていることが報告されている(Rouse et al., 2004)。これまでに野間岬沖の鯨骨域からホネクイハナムシ(*Osedax japonicus*)の共生細菌と同種である可能性の高い株の分離に成功した。しかし、この分離株はホネクイハナムシが分離源ではなく、ホネクイハナムシが生息している鯨骨周辺の堆積物中から分離されたこともあり、本分離株がホネクイハナムシの‘共生者’であるかどうかは不確かであった。そこで、本研究ではホネクイハナムシ共生細菌が生息していると言われる菌根部から共生細菌を分離し、その分離株の分類学的、生理学的性状を明らかにすることを目的とした。

Key words: *Osedax*, Symbiosis, Whale-fall, Taxonomy  
E-mail: miyazakim@jamstec.go.jp

## PK-028

環境微生物の代謝産物をシングルセルで観察  
できるか~ムカシシロアリの腸内共生原生物  
ミクソトリカを例に~

○木原 久美子<sup>1,2</sup>、中西 裕美子<sup>3</sup>、Nathan Lo<sup>4</sup>、本郷 裕一<sup>1</sup>、福田 真嗣<sup>1</sup>、守屋 繁春<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>東工大・院生命理工、<sup>2</sup>理研・抗生物質研、<sup>3</sup>慶大・先端研、<sup>4</sup>シドニー大

環境微生物は複数種が混在する中で、種の特性を反映した生物物質を消費生産している。局所的微小領域では異種間でそれらをやりとりし、この集合が生態環境を創り出す源になっている。特に、サンゴ・ウミウシ・クラゲ・動物腸内・バイオフィームといった共生系では、細胞種が占める空間的位置と、そこにある具体的な物質の種類や量が共生系の複雑な種間関係の鍵となっている。その為、例えば隣接する細胞同士をシングルセルで観察したり、同所的に混在する複数種の細胞をシングルセルで観察したりする事は、共生系の相互作用の解明につながる。しかし、微生物を集団として解析する現行の方法では、微小領域の細胞間相互作用を1細胞レベルで観測する事は難しい。そこで本研究では、シロアリ(*Mastotermes darwiniensis*)腸内微生物群に含まれる原生物(*Mixotricha paradoxa*)をターゲットとし、動物の腸内で複数種が混在し緊密な共生系を構成している環境において、特定の原生物が具体的にどのような代謝産物を保持しているのかを、シングルセルで測定する手法を開発した。顕微鏡下でマイクロマニピュレーションによってターゲットとする細胞を採取し、細胞破碎後に代謝産物を抽出、さらにキャピラリー電気泳動-飛行時間質量分析計(CE-TOFMS)により測定を行ったところ、原生物ミクソトリカ1匹から20種類のアミノ酸を含む約70種類の代謝産物の検出に成功した。本大会ではこれらの結果から見えるシロアリ腸内共生原生物ミクソトリカの共生系における役割に加えて、シングルセルメタボローム解析の手法や、今後の応用について議論したい。

Key words: single-cell metabolomics, symbiosis, cell-cell interaction, protists, termite  
E-mail: kihara.k.aa@m.titech.ac.jp