T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	氷河無脊椎動物に共生する細菌叢の網羅的群集構造・機能遺伝子解析
Title(English)	
著者(和文)	村上匠
Author(English)	Takumi Murakami
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10420号, 授与年月日:2017年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:本郷 裕一,田中 寛,増田 真二,加藤 明,中島 信孝
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10420号, Conferred date:2017/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（理学） Doctor of
学生氏名： Student's Name	村上　匠	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	本郷　裕一
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）

氷河は年間を通じて雪氷に覆われた極限環境であるが、低温環境に適応した藻類・細菌・無脊椎動物などの生物からなる独特の生態系が存在している。近年、氷河上の藻類や細菌の活動が、炭素・窒素循環や氷河の融解促進といった地球規模の現象に影響を与えていることが明らかとなり、集中的に研究されている。その一方で、氷河に生息する大型の無脊椎動物の生態や氷河環境への適応過程、氷河生態系内で担う役割に関する知見は極めて限定的である。しかし、無脊椎動物は氷河生態系内での上位の消費者であると考えられるため、氷河生態系を包括的に理解する上で氷河無脊椎動物を研究することは重要である。本研究では、動物に共生する細菌群集が宿主動物の生存や周辺環境の物質循環に貢献するという知見に着目し、氷河無脊椎動物に共生している細菌群集の群集構造および保有している代謝機能遺伝子の網羅的解析を行い、氷河無脊椎動物–細菌共生系の詳細な理解を目指した。

研究にはアラスカの氷河に生息するコオリミミズ *Mesenchytraeus solifugus* の全身、および南米パタゴニアの氷河に生息する氷河カワゲラ *Andiperla willinki* の腸と糞便から抽出した DNA および RNA を使用した。また、比較対象として、採集地の氷河表面雪氷の細菌群集構造も同時に解析した。細菌群集構造は、真正細菌の 16S rRNA 配列を PCR 増幅し、Illumina MiSeq で網羅的に配列取得することで解析した。

細菌群集構造解析の結果、コオリミミズ・氷河カワゲラ共に、生息氷河表面とは大きく異なる細菌群集構造を保持していることが判明した。まずコオリミミズに関しては、特に Mollicutes 綱や Rickettsiales 目に代表される、動物腸内や細胞内に共生する細菌系統に属する細菌種が特異的に検出された。その一方で、*Arcicella* 属や *Herminiimonas* 属といった雪氷環境由来と考えられる細菌種も、氷河表面試料ではなくむしろコオリミミズ試料からより顕著に検出された。目的細菌種の 16S rRNA 配列を標的とした Fluorescence *in situ* hybridization (FISH)解析の結果、Mollicutes 綱に属する phylotype Ms-13 はコオリミミズ腸壁に、また *Arcicella* 属細菌はコオリミミズ表皮にそれぞれ局在していることが判明した。また、こうしたコオリミミズ試料に特異的な細菌種に加えて、コオリミミズおよび氷河表面試料双方で共通して検出された細菌種も一定の割合で存在した。DNA 試料と RNA 試料間で各細菌種の存在量を比較することにより、これら氷河由来の細菌種はコオリミミズ腸内においても活動的であると示唆された。以上の結果から、コオリミミズは、氷河環境中の細菌を腸内に取り込む共生関係を構築している一方で、一部の氷河由来細菌や動物共生性細菌と、より強固かつ定常的な共生関係を構築していると推察された。

氷河カワゲラに関しては Lachnospiraceae 科・Porphyromonadaceae 科・Erysipelotrichaceae 科といった、昆虫をはじめとする動物腸内環境特異的な細菌系統群に属する細菌種が腸・糞便試料ともに優占していたが、生息氷河表面試料からは検出されなかった。FISH による解析の結果、この 3 科に属する phylotype の局在を氷河カワゲラ中腸内の囲食膜上にそれぞれ確認した。

さらに、氷河カワゲラ腸内共生細菌の持つ代謝機能を推定するために、氷河カワゲラの腸・糞便試料から共生細菌群集のゲノム断片配列を網羅的に取得し、コンティグを作成した。その後、細菌系統群ごとにコンティグを分類し、ゲノム被覆率が高く、かつ氷河カワゲラ腸内に特異的な細菌系統群である Porphyromonadaceae 科・Xanthomonadaceae 科・Enterobacteriaceae 科・Neisseriaceae 科にそれぞれ属する 4 個のコンティグ群を選別し、多糖や窒素代謝に関する代謝機能遺伝子の有無を調査した。その結果、これら氷河カワゲラの腸内細菌系統は、セルロース・ヘミセルロースやキチンといった、植物や真菌類の細胞壁を構成する難分解性多糖の分解酵素遺伝子や、異化的硝酸還元などの無機窒素化合物代謝酵素遺伝子を有していることが判明した。このことから、氷河カワゲラの腸内細菌群集は、氷河カワゲラの食物である藻類などの分解に関与することで、氷河カワゲラの生存に寄与するほか、氷河生態系内における炭素・窒素循環の一部を担っている可能性が示唆された。

結論として、氷河無脊椎動物は周囲の氷河環境と大きく異なる細菌群集を自身の腸内や体表に保持しており、氷河由来の細菌系統と、動物特異的に共生する細菌系統の双方と共生関係を構築していると判明した。本研究によって、氷河無脊椎動物およびその共生細菌群集が、氷河生態系内で独特のニッチを有している可能性が強く示唆された。そして、氷河という極限環境に適応した生物の生存と、それを支える物質循環の詳細な理解に繋がる知見を初めて提示した。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of　（理学）
学生氏名： Student's Name	村上 匠	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	本郷　裕一
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）

In glacier environments, which are covered with snow and ice permanently, cold-adapted organisms such as bacteria, algae, and invertebrates form unique ecosystems. While investigations on glacier microorganisms have been conducted intensely, ecology and evolution of glacier invertebrates and their association with microorganisms have scarcely been studied. In this study, structure and metagenome of bacterial communities associated with the glacier invertebrates were investigated in detail. Nucleic acids extracted from the entire body of the glacier ice worm *Mesenchytraeus solifugus*, and the gut and feces of the glacier stonefly *Andiperla willinki* were used for analyses.

Bacterial community structures assessed by 16S rRNA sequences indicated that bacterial communities associated with ice worms and glacier stoneflies were distinct from those on their respective habitat glacier surfaces. In ice worm samples, both glacier-indigenous and animal-specific-associated bacteria were detected. By using fluorescence *in situ* hybridization (FISH), a Mollicutes phylotype Ms-13, which was affiliated with an animal-gut-associated bacterial lineage, and glacier-indigenous *Arcicella* phylotypes were specifically detected on the gut wall and epidermis of ice worms, respectively.

In glacier stonefly samples, phylotypes affiliated with animal-gut-associated bacterial lineages such as Lachnospiraceae, Porphyromonadaceae, and Erysipelotrichaceae were abundantly detected. FISH analysis revealed that three phylotypes affiliated with each of these three families were located on the peritrophic matrix in the midgut of the stoneflies. Metagenomic analysis on the gut bacterial community of the glacier stoneflies indicated that several stonefly-gut-specific bacterial lineages harbored genes encoding carbohydrases which degrade recalcitrant polysaccharides such as cellulose and chitin. In addition, genes associated with nitrate respiration and ammonium uptake were detected.

These results imply that glacier invertebrates and their associated bacteria occupy the unique niches in the glacier environments. Activity of microorganisms associated with glacier invertebrates might contribute to the host nutrition and carbon/nitrogen cycles in the glacier environments.

備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).