



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | ルーメン内繊維分解コンソーシウムにおける細菌間相互作用に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]                                                                           |
| Author(s)           | 福間, 直希                                                                                                                    |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                     |
| Degree Name         | 博士(農学)                                                                                                                    |
| Dissertation Number | 甲第11820号                                                                                                                  |
| Issue Date          | 2015-03-25                                                                                                                |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/58654">https://hdl.handle.net/2115/58654</a>                                         |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                           |
| File Information    | Naoki_Fukuma_review.pdf, 審査の要旨                                                                                            |



# 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学）

氏 名 福間 直希

審査担当者 主 査 教 授 小 林 泰 男  
副 査 教 授 高 橋 昌 志  
副 査 助 教 小 池 聡

## 学 位 論 文 題 名

ルーメン内繊維分解コンソーシウムにおける細菌間相互作用に関する研究

本論文は5章から構成され、表19、図9、引用文献95編を含む87頁の論文であり、別に2編の参考論文が添えられている。本研究は、反芻動物第一胃（ルーメン）で植物繊維を主導的に分解する細菌集団である繊維分解コンソーシウムに焦点をあて、重要構成員3菌種の共存による繊維分解促進を検証すると共に、細菌間相互作用による活性化要因を探索したものである。成果は次のように要約される。

第1章では、これまでのルーメン細菌研究を振り返って既知情報をまとめた上で、繊維分解コンソーシウムを構成する細菌種の生理的および生態的情報を精査し、繊維分解菌 *Fibrobacter succinogenes*（以下、Fs）、非繊維分解菌 *Selenomonas ruminantium*（以下、Sr）および近年分離培養化されたルーメン細菌 R-25（以下、R25）の3者がコンソーシアムの重要構成員であることを示した。さらに、繊維分解における細菌間の協調関係の重要性を挙げ、重要構成員3菌種間での相互作用を解明する必要性を強調した。

第2章ではFs、SrおよびR25をイナワラを炭素源とする培地に同時接種し、共培養を行うことで3菌共存下での繊維分解促進の検証を行った。イナワラ消化率はFs単独培養時に比べ3菌共培養時に有意に向上した。Fs単独培養時には本菌の発酵産物および繊維分解産物の蓄積がみられたが、3菌共培養においてはこれら産物の蓄積は解消された。共培養下で3菌の増殖阻害は見られず、総発酵産物量は各菌の単独培養時の合計量よりも増加したことから、共存による相乗効果が認められた。以上より、Fs、R25およびSrは協調的に働くことで繊維分解発酵が促進されることを確認した。

第3章ではFs単独培養区と3菌共培養区でのFsの遺伝子発現を網羅的に解析し、繊維分解活性化の要因を探索した。Fsが保有する繊維分解酵素遺伝子の大部分は単独と共培養で

変動が見られず、3 菌共培養時において繊維分解酵素遺伝子の発現誘導は認められなかった。一方、シグナル伝達や転写制御因子などの転写調節に関わる遺伝子は 3 菌培養により発現量が 2 倍以上高まった。このことは 3 菌共培養時の Fs では転写調節因子の発現が向上し、mRNA およびタンパク質の合成が全般的に活性化されるものと推察された。一方で、シャペロンに関連する遺伝子の発現量は 3 菌共培養下で 1/4 以下に低下した。本遺伝子はストレス環境下で発現が向上し、高レベルでの発現は ATP の浪費につながるということが知られている。したがって、Fs 単独培養区では繊維分解産物および発酵代謝産物の蓄積がストレスとなりシャペロンの発現を誘導し、これに伴う ATP の浪費により Fs の代謝活性や繊維分解活性が制限されていることが示された。

第 4 章では前章で示唆された 3 菌共培養下での Fs の全般的なタンパク質産生の増強を検証するため、同一培養サンプル中の 16S rDNA とその転写物 (16S rRNA) を絶対定量し、rDNA コピーあたりの rRNA 発現量を算出することで、1 細胞あたりの代謝活性の査定を試みた。Fs の増殖は単独および共培養で同様であったが、rDNA コピーあたりの rRNA 発現量は単独培養時よりも共培養時で有意に高い値を示した。この結果により、非繊維分解菌との共培養下では Fs の 1 細胞あたりの代謝活性が増加することを確認した。また、繊維分解コンソーシウム活性化の要因と考えられる非繊維分解菌による繊維分解産物の取り込みを検証するため、R25 および Sr の糖トランスポーター遺伝子の発現解析を行ったところ、3 菌共培養時に高い発現量を示す 4 種の遺伝子が見られ、それらはキシロオリゴ糖により発現誘導されることを確認した。この結果は、非繊維分解菌の糖トランスポーター遺伝子は Fs の分解産物により発現誘導され、繊維分解の阻害因子となる繊維分解産物を活発に取り込むことを示唆するものである。

終章 (5 章) では一連の結果を総括し、繊維分解コンソーシウムにおける細菌間相互作用とそれがもたらす繊維分解の促進要因を明示した。

以上、本研究ではルーメン内繊維分解コンソーシウムにおいて繊維分解菌と非繊維分解菌の分解・代謝産物のクロスフィーディングが、円滑な繊維分解において重要であることを示した。また、繊維分解の促進は繊維分解酵素遺伝子の発現誘導ではなく、繊維分解菌の全般的なタンパク質産生亢進に起因することを遺伝子発現の側面から明らかにした。繊維分解促進の鍵となる細菌間相互作用を解明できたことは基礎学問的な価値のみならず、反芻動物による繊維消化メカニズムの解明に大きく貢献する知見といえる。

よって審査員一同は、福岡直希が博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。