



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Elucidation of evolutionary process and genetic basis of the stinkbug-Burkholderia gut symbiosis [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	竹下, 和貴
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12255号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62034
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Kazutaka_Takeshita_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 竹 下 和 貴

審査担当者	主 査	客員准教授	菊 池	義 智
	副 査	特任 教授	浅 野	行 蔵
	副 査	客員 教授	鎌 形	洋 一
	副 査	准 教 授	曾 根	輝 雄

学 位 論 文 題 名

Elucidation of evolutionary process and genetic basis of the stinkbug-*Burkholderia* gut symbiosis

（カメムシ類 - *Burkholderia* 腸内共生系の進化過程および遺伝的基盤に関する研究）

竹下和貴君の学位論文に関する選考委員会は 2016 年 2 月 29 日 14:20～15:00 に行われ、内容に関する審査が行われた。本学位論文は、図 30、表 12、引用文献 155 編を含む 6 章 156 ページから構成され、別に 3 編の参考論文が添えられている。

微生物との共生現象は広く動植物にみられるが、多くの共生系において宿主-微生物間にみられる相互作用の実態はほとんど解明されていない。ホソヘリカメムシ（*Riptortus pedestris*；ヘリカメムシ上科）をはじめとする一部のカメムシ類は、一般的な昆虫とは異なり共生細菌の母子間伝播を行わず、毎世代土壤中から *Burkholderia* 共生細菌を獲得し、消化管後端部に発達する袋状組織（盲囊）に特異的に保持することが知られている。本学位論文は、共生細菌の培養・遺伝子組み換えが可能なホソヘリカメムシおよびその近縁のカメムシ類と *Burkholderia* との腸内共生を対象に、その進化過程や遺伝的基盤の解明を目指したものであり、成果は以下のように要約される。

1) カメムシ類 - *Burkholderia* 共生系の進化的起原の解明

先行研究における約 130 種を対象としたカメムシ類の共生細菌叢の調査から、カメムシ類 - *Burkholderia* 共生系の進化的起原はヘリカメムシ上科とナガカメムシ上科の共通祖先であると推定されていた。本学位論文では、上記 2 上科と姉妹群になるホシカメムシ上科に属するオオホシカメムシ科 3 種 15 個体群を対象に、共生細菌の宿主消化管内局在、系統学的位置および伝達様式に関して詳細に調査した。FISH 法による宿主消化管の観察、共生器官由来 DNA の 16S rRNA 遺伝子のクローン解析および次世代シーケンサによる共生細菌叢解析、卵における感染調査などさまざまな実験アプローチによりこの共生系を研究し、オオホシカメムシ類も土壤中から *Burkholderia* 共生細菌を獲得し、盲囊部特異的に共生させていることを明らかとした。ヘリカメムシ上科とナガカメムシ上科の共生細菌は *Burkholderia* 属内で単系統群を形成し、カメムシ共生グ

グループ（Stinkbug-associated beneficial and environmental group; SBE）と呼ばれている。本学位論文による分子系統解析の結果、オオホシカメムシ類の共生細菌は SBE とは系統的に大きく異なる植物共生グループ（Plant-associated beneficial and environmental group; PBE）の *Burkholderia* であることが明らかとなった。これらの結果から、①カメムシ類 - *Burkholderia* 共生系の起原は従来考えられていたものよりも古いこと、②カメムシ類の進化過程において SBE から PBE（または PBE から SBE）への共生細菌系統の入れ替わりが起きたことが示唆される。

2) *Burkholderia* 共生細菌の同定およびゲノム解読

化学分類学的情報と遺伝情報に基づきホソヘリカメムシ腸内単離菌株である RPE64 株の種同定を行い、新種 *Burkholderia insecticola* と命名した。本種はカメムシ腸内共生細菌として初記載種である（本菌株に関する記載論文は International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 誌に投稿し revision 中である）。これまでに共同研究者による先行研究により *Burkholderia insecticola* RPE64 株の完全長ゲノムが解読されていた。そこで本博士論文では、*Burkholderia insecticola* RPE64 株とは種レベルで異なる *Burkholderia* sp. RPE67 株についてゲノム解読を行い、カメムシ腸内共生細菌としては 2 例目となる完全長ゲノム（8.69 Mbp）を決定した。

3) *Burkholderia* 細菌の網羅的比較ゲノム解析による共生関連遺伝子の推定

ホソヘリカメムシは SBE 系統の *Burkholderia* を毎世代環境土壤中より獲得し特異的に共生させている。本博士論文では、この共生特異性を裏打ちする共生細菌側の遺伝的基盤の解明を目指して、共生細菌 RPE64 株・RPE67 株と非共生性 *Burkholderia* 31 株の完全長ゲノム配列情報を利用して比較ゲノム解析を行った。大規模比較ゲノムの結果、SBE 系統の種にのみ特異的に存在する遺伝子を 283 個見出した。これら遺伝子の多くは機能未知であったが、リポ多糖生合成タンパク質や接着性線毛など細菌の細胞表層構造に関わる遺伝子が多数含まれており、これらがホソヘリカメムシ類 - *Burkholderia* 共生系における共生者側の“共生因子”である可能性が強く示唆された。

以上のように本博士論文では、オオホシカメムシの内部共生系を詳細に解析し、カメムシ類 - *Burkholderia* 共生系の進化的起原を明らかにした。また、*Burkholderia* 共生細菌のゲノム解読および比較ゲノム解析により、SBE 系統の *Burkholderia* に特異的な遺伝子（共生関連遺伝子の候補）を多数見出した。これは *Burkholderia* 共生細菌のゲノムについて、ゲノム情報学の手法を用いて網羅的かつ詳細に比較解析を行った初めての報告であり、今後共生生物学の分野において広く参考とされる重要な研究と言える。これら博士論文の成果については 2 報の査読付き国際誌に発表され、また 1 報については査読付き国際誌において revision の状態にある。

よって、審査員一同は、竹下和貴君が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。