

昆虫の共生微生物研究の進展

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻細胞生理化学研究室 いし かわ はじめ
石 川 統

種の多様性の豊かさでも、個体数の多さからも、他の追従を許さない昆虫という動物群は、共生のパートナーという意味でも他の動物群を圧倒するチャンピオンである。逆にみれば、異種生物と様々な形でかかわり合いをもてる、昆虫類の柔軟な在り方そのものが、このグループの今日の繁栄の原点であるともいえる。なかでも、昆虫と微生物のかかわりは内部共生だけでも、消化管内共生、細胞間共生、細胞内共生と多様かつ多岐にわたり、とても全体像を述べる時間も紙数もないので、ここでは筆者の専門である細胞内共生に限って、その一面を紹介することにする。さらに詳しく知りたい方は、この分野のバイブルであるBUCHNERのモノグラフ(BUCHNER, 1965)か、それには及びもつかぬ代物だが、拙著(石川, 1994)に当たっていただきたい。

I 菌細胞共生体とゲスト微生物

昆虫の細胞内に常在し、垂直感染によって次世代へ伝えられる共生微生物には、大きく分けて二つのタイプがある。一つは菌細胞共生体で、いずれも菌細胞と呼ばれる昆虫の特殊な体細胞に収納されており、多くの場合、宿主にとって不可欠の存在である(ISHIKAWA, 1989)。もう一つは、*Wolbachia* (ボルバキア, ウォルバキア)に代表されるゲスト微生物で、主として宿主の生殖細胞に局在し、巧みに昆虫の性と生殖を操作することによって自らのシェアを拡大する戦略をもっている(O'NEILL et al., 1997)。菌細胞共生体はいわば昆虫に飼い慣らされた微生物であり、これを家畜に例えるとすれば、ゲスト微生物のほうは人家に跳梁するゴキブリやネズミに似ているかもしれない。ゲスト微生物に関しては、第2章と第3章で*Wolbachia*の例が詳しく述べられるので、ここでは触れないでおく。菌細胞共生体を保有する昆虫はアブラムシ、ウンカ、ゴキブリ、ゾウムシなど、少なくとも6目にわたるが、中でもアブラムシ、ウンカなどを含む同翅目では、すべての種がこれをもつと推測されている。これは、同翅目の昆虫がいずれも養分の乏しい植物汁液を一生の常食としていることと密接に関係があり、菌細胞共生体が不可欠養分の補給に重要な役割を果たしていることをうかがわせるが、その詳細については第4章に譲る。

II *Buchnera* の分子系統

やや我田引水になるが、最近の研究の進展を少ない紙数で述べるとすれば、アブラムシ類の菌細胞共生体の分子系統、遺伝子構造と発現、ゲノム構成などについての知見の急速な蓄積についてであろう。アブラムシの菌細胞共生体は単離して培養することが不可能であり、このことがネックとなって歩みの遅かった遺伝子関係の研究が、PCR法の開発と改良によって一気に花開きつつあるのが現状である。BAUMANN(カリフォルニア大デービス校)のグループは、1991年に複数種のアブラムシから得た菌細胞共生体の16 SrDNAの塩基配列を他の細菌のものと比較することによって、共生体が大腸菌などと同系統のプロテオバクテリアγ3亜族に属することを示し、これに*Buchnera aphidicola*という学名を与えた(MUNSON et al., 1991)。前述の*Buchnera*にちなんで命名である。ただし、後に述べるように種の異なるアブラムシに含まれる共生体は単系統とはいえず、少しずつ違っている。異なるものを一括して共通の種名で呼ぶことには異論も多いので、ここでは*Buchnera*という属名だけを使うことにする。1993年には、MORAN(アリゾナ大)とBAUMANNのチームが、16 SrDNAの構造に基づく*Buchnera*の分子系統樹と、それらの宿主であるアブラムシ類の形態形質に基づく系統樹の樹形が完全に一致することを見いだした(MORAN et al., 1993)。このことは、現生のアブラムシ類の共通祖先と、ある種の細菌が過去に一度だけ共生関係を結び、それが代々垂直感染だけで維持されてきたことを示唆している。その結果として、宿主の種分化に対応して*Buchnera*も多様化したのであり、状況は真核生物とミトコンドリアの関係を連想させる。まさに、*Buchnera*はアブラムシによって飼い慣らされてきたのである。しかし、話を同翅目全体へ広げると、宿主と共生体の関係はこれほど単純ではなくなる。同翅目の昆虫はすべてが植物汁液を常食とし、しかも基本的にすべてが菌細胞共生体を保有しているにもかかわらず、それら共生体の起源は決して単一ではない。中には、共生体として真菌をもつものさえあるし、細菌である場合でも、カイガラムシ上科などでは、共生が何度も独立に起こったことが示唆される(BUCHNER, 1965)。同翅目の共通祖先、あるいは同翅目腹吻群(コナジラミ、アブラムシ、カイガラムシなど)の共通祖先が、かつて何らかの微生物を共生の相手として採用したことがあったとしても、それは進化的時間を通じて保持されること

Progress in Research on Symbiotic Microorganisms of Insects. By Hajime ISHIKAWA

(キーワード: 共生微生物, アブラムシ, *Buchnera*, 分子系統, ゲノムサイズ, 超高倍率性)

はなく、宿主の種分化に伴って、何度か共生体は置換されて現在に至ったのであろう。アブラムシ類を見ても、*Buchnera* に加えて他の細菌を共生体としてもつものが少なくない。これら二次共生体は将来 *Buchnera* にとって替わる可能性をもつし、事実、すでに *Buchnera* を失って真菌と共生している例外的アブラムシ類も知られている (FUKATSU et al., 1994)。

III *Buchnera* の遺伝子

古生物学的知見に基づけば、アブラムシ類の共通祖先の起源はおよそ 2 億年前と推定され、これに *Buchnera* の単系統性を考え併せると、共生の起源もやはりそのころということになる (MORAN and BAUMANN, 1994)。アブラムシ類は大腸菌とも、*Buchnera* とも近縁な腸内細菌を抱えており、これの祖先が *Buchnera* の起源となったと考えてもよさそうである (HARADA et al., 1996)。いずれにしても、*Buchnera* は共生を開始してから 2 億年の間、おそらく一度も宿主体内から出ることなく垂直伝播され、しかも、その大部分の期間を菌細胞という限られた空間に閉じ込められて今日に至った細菌である。このような細菌は、2 億年という時間経過の中でどのような進化を遂げたかというのが、目下のわれわれの興味の焦点である。都合のよいことに、上記の分子系統解析の結果から、*Buchnera* には直接の比較の対象となりうる大腸菌という「近親者」が存在することがわかっている。このことを利用して BAUMANN のグループは、ここ数年 *Buchnera* の遺伝子を次々と同定することに専念しており、それらの全長はすでに 100 kb を超えている (CLARK et al., 1998)。これまでのところ、大部分の結果は大腸菌との近縁性を再確認させるものばかりだが、注目すべき結果としては、アミノ酸のロイシンおよびトリプトファン合成系の遺伝子がプラスミド上に増幅されて存在すること、大腸菌と違って、rDNA はゲノム中に 1 コピーしかなく、しかも 16 S と 23 S rRNA コード領域がたがいに独立のオペロンを形成していることが挙げられる。

IV *Buchnera* のゲノム

これに対して、筆者らは *Buchnera* の個々の遺伝子もともかく、ゲノム全体へのアプローチを行いつつある。その一環として、最近、ゲノム DNA の制限酵素断片をパルスフィールド電気泳動で解析することによって、*Buchnera* のゲノムサイズを正確に知ること成功した (CHARLES and ISHIKAWA, 1998)。その結果によると、*Buchnera* ゲノムは 657 kb の環状 DNA からなり、そのサイズは既知の細菌のゲノムとしては、ある種のマイコプラズマ (580 kb) に次いで小さい。大腸菌ゲノムに比べると、そのサイズは 1/7 にしか過ぎず、大腸菌の遺伝子数が約 4,300 であることを考えると、*Buchnera* はわず

か 600 の遺伝子しかもたない計算になる。BAUMANN らの研究によって、これら 600 の遺伝子のうちの 10% 程度はすでに同定されている。一方、共生によって失われた 3,700 の遺伝子がどのようなものであるかは、現在筆者らが進めつつある *Buchnera* ゲノムプロジェクトが、後半年ほどで結果を出すまでは何もいえない。しかし、それがわかったときには、細胞内共生という現象への理解が飛躍的に高まることであろう。ところで、細胞内共生によって細菌のゲノムサイズが縮小するという事実は、否応なしにミトコンドリアや色素体の起源についての共生説を思い出させるが、ごく最近になってもう一つ、*Buchnera* とこれら細胞小器官の類似点が明らかになった。ゲノムサイズに関しては、*Buchnera* は大腸菌の 1/7 しかないのに、細胞自体の体積は数十倍あり、そのゲノムは極端に A/T を多数に含む (ISHIKAWA, 1987)。そして、菌細胞外では決して分裂しないのに、DNA 合成はさかに行う (ISHIKAWA, 1982)。これらの事実は、等しくある可能性を示唆している。そう、*Buchnera* はめったに分裂はしないが、DNA の複製は頻繁に行う細菌ではないか、つまりゲノムのコピーを多数もつ細菌ではないかという可能性である。考えてみれば、*Buchnera* を収納している菌細胞も、高倍数性で、事実上分裂能を失った巨大細胞である (BUCHNER, 1965)。そして、もちろんミトコンドリアや色素体もゲノムコピーを多数にもつのが常態である。結果は予想どおりであった。DNA 量を直接測定する方法からも、二つの遺伝子についてのドットプロット・ハイブリダイゼーションからも、*Buchnera* は 657 kb のゲノムを、一つの細胞中に 100 コピー以上保有する、超高倍数性細菌であることが示されたのである (KOMAKI et al., submitted)。

引 用 文 献

- 1) BUCHNER, P. (1965) : Endosymbiosis of animals with plant microorganisms, Interscience, New York, 909 pp.
- 2) CHARLES, H. and H. ISHIKAWA (1998) : J. Mol. Evol., in press.
- 3) CLARK, M. A. et al. (1998) : Curr. Microbiol. 36: 158~163.
- 4) FUKATSU, T. et al. (1994) : Zoological Sci. 11: 613~623.
- 5) HARADA, H. et al. (1996) : J. Gen. Appl. Microbiol. 42: 17~26.
- 6) ISHIKAWA, H. (1982) : Insect Biochem. 12: 605~612.
- 7) ——— (1987) : J. Mol. Evol. 24: 205~211.
- 8) ——— (1989) : Intern. Rev. Cytol. 116: 1~45.
- 9) 石川 統 (1994) : 昆虫を操るバクテリア, 平凡社, 東京, 230 pp.
- 10) MORAN, N. A. (1993) : Proc. R. Soc. Lond. B 253: 167~171.
- 11) ——— and P. BAUMANN (1994) : Trends Ecol. Evol. 9: 15~20.
- 12) MUNSON, M. A. (1991) : Int. J. Syst. Bacteriol. 41: 566~568.
- 13) O'NEILL et al. eds. (1997) : Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction, Oxford Univ. Press, Oxford, 214 pp.