



TITLE:

ヤマトシロアリ(Reticulitermes speratus)の窒素代謝においてリゾチームが果たす機能( Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

藤田, 愛

---

CITATION:

藤田, 愛. ヤマトシロアリ(Reticulitermes speratus)の窒素代謝においてリゾチームが果たす機能. 京都大学, 2003, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2003-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/149120>

RIGHT:

氏名	ふじ 藤 田 あい 愛
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2660号
学位授与の日付	平成15年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	ヤマトシロアリ ( <i>Reticulitermes speratus</i> ) の窒素代謝においてリゾチームが果たす機能

論文調査委員 (主査) 教授 清水 勇 教授 西田 利貞 助教授 杉本 敦子

### 論文内容の要旨

本研究においてはまず、シロアリによるバクテリア消化能を確かめるため、ヤマトシロアリを用いて、溶菌酵素であるリゾチーム活性の体内分布を調べた。その結果、唾液腺からは全活性、比活性共に強い活性が検出されたが、消化管からは、ごく弱い活性しか検出されなかった。しかし、前腸では唾液腺に次いで高い比活性が検出された。唾液腺と前腸のリゾチーム活性のpHプロファイルは類似しており、前腸のリゾチームは唾液腺に由来すると考えられた。シロアリの体内におけるプロテアーゼ活性を測定すると、全活性、非活性ともに中腸で最大であった。さらにヤマトシロアリの消化管中のアミノ酸分析を行った結果、必須アミノ酸を含む各種の生体アミノ酸が検出され、その濃度は中腸で最大となった。 $^{15}\text{N}_2$  ガスを含む大気中でシロアリを飼育し、空中窒素がシロアリの体内に同化される量を経時的に追跡した結果、後腸、前中腸、体組織、頭部の順に $^{15}\text{N}$ が蓄積することが示された。これらの結果より、唾液腺で分泌されたリゾチームを利用して、栄養交換を介して摂取した後腸のバクテリアを消化していることが、強く示唆された。また、窒素含有量の少ない食物を食べている草食動物や、ある種の昆虫では消化的に機能するリゾチームが存在し、これらのリゾチーム遺伝子の配列に分子レベルでの収斂現象が報告されている。そこで本研究ではヤマトシロアリのリゾチームのcDNA配列を決定して、その特性を知ろうと試みた。ヤマトシロアリからはリゾチームをコードすると考えられるcDNAが2種 (*Lys-1*, *Lys-2*) クローニングされた。いずれのリゾチームも唾液腺のみで発現しており、シロアリのゲノム由来であることが示された。cDNAあるいはアミノ酸配列をもとにリゾチームの分子系統樹を得た。さらに、ヤマトシロアリのリゾチームに8アミノ酸の挿入配列を持つという特徴が見られること、C末端側に比較的長いペプチド断片を持つことや、イントロンを欠くということを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

食材性シロアリの体の窒素の多くが、肛門食を介して摂取した消化管内のバクテリアに由来する可能性が議論されていたが、この仮説を支持する実験報告は、いままではなかった。本論文においては、窒素をほとんど含まない材を食するヤマトシロアリを用いて、体内におけるリゾチーム活性、プロテアーゼ活性、およびアミノ酸濃度を測定することにより、上記の仮説を検証しようとした。まずリゾチームに関しては、唾液腺から全活性、比活性共に強い活性を検出した。一方、前腸、中腸、後腸などの消化管では、リゾチーム活性の全活性は低かったが、前腸では唾液腺に次いで高い比活性を検出した。唾液腺と前腸のリゾチーム活性のpHプロファイルは、ほぼ一致していたことを示し、前腸のリゾチームは唾液腺に由来することを示唆している。ついでヤマトシロアリのプロテアーゼ活性の体内分布を測定すると、全活性、非活性ともに中腸で最大であることを見出している。またヤマトシロアリの消化管中のアミノ酸分析を行った結果、必須アミノ酸を含む各種の生体アミノ酸が検出され、その濃度は中腸で最大となることを明らかにしている。さらに安定同位体 ( $^{15}\text{N}_2$ ) を用いるトレーサー実験を行ない、 $^{15}\text{N}_2$  ガスを含む大気中でシロアリを飼育し空中窒素が、シロアリの体内に同化される量を経時的に追跡した結果、後腸、前中腸、体組織、頭部の順に $^{15}\text{N}$ を蓄積することを示した。これらの結果を総合して、肛門食を介して

摂取したバクテリアを、唾液線から分泌されたリゾチームが中腸で溶菌し、溶出してきたタンパク質をプロテアーゼが分解するという図式を提出した。摂取バクテリアの動態観察を含めて、これをさらに確認することが、今後の課題ではあるが、肛門食—バクテリア摂食説を支持する具体的な知見を、世界で初めて提示した点は高く評価されるものである。

動物の体内に消化的に機能するリゾチームが存在し、これらのリゾチーム遺伝子の配列に分子レベルでの収斂現象があることが報告されている。本論文では、ヤマトシロアリにおける発現リゾチーム遺伝子をクローニングして、この配列や発現を調べた分子レベルでの研究結果も出している。RT-PCR 実験の結果、クローニングしたいずれのリゾチーム (Lys-1, Lys-2) も唾液腺のみで発現しており、またサザンブロット実験の結果から、シロアリのゲノム由来であることを示している。さらに cDNA あるいは推定アミノ酸配列をもとに作成したリゾチームの分子系統樹を描いて、分子系統関係を示している。ヤマトシロアリのリゾチーム遺伝子の ORF に 8 アミノ酸をコードする挿入配列を持つという特徴が見られること、C 末端側に比較的長いペプチド断片を持つこと、遺伝子レベルでイントロンを欠くということがわかり、昆虫のリゾチームの進化を考察する上で、興味深い結果を得ている。

よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本論文および参考論文に報告されている研究業績を中心として、口頭試問を行った結果、合格と認めた。