

京都大学	博士（生命科学）	氏名	牟禮あゆみ
論文題目	野生のショウジョウバエ幼虫の成長を支える共生微生物叢の機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>自然界で、動物はさまざまな微生物と共生する。動物が栄養素を摂取して生育する過程では、微生物が重要な役割を果たすことが知られているが、多様な微生物種からなる微生物叢においてどの種が中心的な役割を担うか、またその種が担う役割は何かについては不明な点が多い。野生のショウジョウバエの幼虫は、酵母や細菌により発酵した果物を食べて蛹まで成長する。共生微生物は幼虫の成長に必須の栄養素を供給すると考えられているが、個々の種が果たす役割については知見が少ない。そこで本研究では、幼虫が食べる発酵餌にいた微生物を解析し、幼虫の成長過程でどの微生物種が、どのような役割を果たすかを解析した。</p> <p>申請者はまず、バナナを入れたトラップを屋外に仕掛け、野生のショウジョウバエが産卵した餌を採取した。この餌のサンプルを発酵の進行度が異なる2時点で回収し、真菌叢と細菌叢の組成を調べたところ、発酵初期には酵母 <i>Hanseniaspora uvarum</i> とエンテロバクター目細菌が優占していた。一方、発酵後期になると、真菌叢では初期とは異なる酵母種が優占し、細菌叢では酢酸菌と乳酸菌が大きな割合を占めた。次に、どの微生物種が幼虫の成長を支えるかを調べた。餌から単離した微生物を、潰したバナナを寒天で固めた培地の上で幼虫に与えたところ、発酵初期に優占した微生物の中では酵母 <i>H. uvarum</i> のみが、ほかの微生物の有無にかかわらず幼虫の成長を支えられた。発酵後期の微生物は、いずれも単独では幼虫の成長を支えられなかった一方、酢酸菌 <i>Acetobacter orientalis</i> とその他の微生物を混合して与えると、幼虫が蛹まで成長した。</p> <p>申請者はさらに、微生物が幼虫の成長を支える機構について解析した。発酵後期餌由来の微生物を孵化直後の幼虫に与え、幼虫の遺伝子発現を調べたところ、酢酸菌と乳酸菌を混合して与えた場合など、幼虫の成長を支えられる条件下では、幼虫体内で細胞増殖に関わる遺伝子が比較的高く発現していた。一方、このような遺伝子発現は、酢酸菌を単独で与えた幼虫でも見られた。この結果から、摂食開始後間もない時点では、酢酸菌のみを食べた幼虫も成長できている可能性が示唆された。また、酢酸菌を単独で幼虫に与える際、菌体を毎日餌に追加した場合には、ほかの微生物が存在しなくても幼虫が蛹まで成長できた。以上から、酢酸菌は幼虫に栄養素を供給できるものの、単独で与えると、幼虫の成長途中で菌体が枯渇することが示唆された。さらに、酢酸菌を単独で与えたときと比べ、酵母や乳酸菌とともに与えたときには、幼虫の成長過程で、より多くの酢酸菌が餌に残っていた。このことから、発酵後期餌にいる酵母や乳酸菌は、酢酸菌と幼虫との安定した共生関係を支えることで、間接的に幼虫の成長に寄与することが示唆された。</p> <p>発酵初期に酵母 <i>H. uvarum</i> が栄養素を供給する機構については、酵母種間の比較解析により追究した。酵母の生菌あるいは死菌を幼虫に与えた実験や、メタボローム解析の結果から、<i>H. uvarum</i> などの幼虫の成長を支えられる酵母は、発酵後期に優占する成長を支えられない酵母と比べて、多量の栄養素を細胞外へ放出することがわかった。また、酵母が放出する栄養素のうち、ロイシンとイソロイシンを餌に添加すると、発酵後期に優占する酵母を食べた幼虫の成長が回復した。よって、<i>H. uvarum</i> などの酵母は、細胞内で生合成または濃縮した栄養素を、細胞外へ放出することで幼虫に供給することが示唆された。</p> <p>このように申請者は、発酵の進行に伴って移り変わる餌微生物叢の中で、初期には栄養素を幼虫に利用可能な状態で供給できる酵母との共生が、後期には酢酸菌とその他の微生物との共存が、幼虫の成長を支えていることを明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

共生微生物叢は、動物の成長に影響を与える要因のひとつである。共生微生物叢は様々な面で宿主の成長に重要だが、どの微生物種がどのような役割を担うかについては不明な点が多い。そこで、申請者は野生のショウジョウバエの幼虫が成長する過程で共生酵母や共生細菌による栄養素の供給が必須となる点に着目し、幼虫と微生物との共生関係をモデル系として、宿主の成長において個々の微生物が果たす役割を解析した。

申請者は、野外に仕掛けたトラップから野生の幼虫が摂食する発酵餌を採取し、餌微生物叢の組成を解析した。さらに、餌から単離した微生物を用いた解析により、幼虫の成長に寄与する微生物種を特定し、直接幼虫に栄養素を供給する種と、微生物種間相互作用を介して間接的に幼虫の成長を支える種がいることを明らかにした。

申請者は、発酵が進行した餌において、酢酸菌－酵母間あるいは酢酸菌－乳酸菌間の相互作用が、幼虫の成長を継続的に支える上で重要となることを示した。さらに、これらの微生物間で代謝産物が受け渡されることにより、酢酸菌の増殖が促進される可能性についても考察した。一方、餌内ではこれら以外の微生物の間でも相互作用が起きているかもしれない。その一例として、異なる種の酵母が互いを排除するような競争関係について、申請者と議論した。餌内の微生物の種間関係について、今後さらに多様な種間での解析が行われることが期待される。

本研究では、餌に存在する酵母のうち、栄養素を細胞外に放出し、幼虫に利用できる状態で供給できる種が幼虫の成長を支えることが明らかになった。酵母が幼虫に栄養素を供給する機構については、いまだに知見が少ない。本研究はその一端を解明したものとして、今後の研究の基盤となることが期待される。一方、栄養素が細胞外へ放出される機構については、培地上で死んだ細胞から漏出した可能性があると考えられている。これは幼虫と酵母の共生関係を明らかにする上で興味深い点であり、さらなる解析が求められる。

本研究で同定された幼虫の成長に重要な微生物は、世界各地のショウジョウバエと共生することが報告されている。そのため、本研究で解明された幼虫と微生物との共生関係は、生息地を問わず見られる可能性がある。他方で、共生関係には微生物の種以外にも、ショウジョウバエの種や果物の種類など、多くの要因が寄与する。ショウジョウバエの幼虫と微生物との共生関係について、本研究で明らかになった機構を足がかりに、さらに広範な解析が進むことが期待される。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、発生生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい手法や概念等が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和6年1月23日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日