シロアリは自分でセルラーゼを生産する

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者名	野田,博明 渡辺,裕文 徳田,岳
発行元	農林水産技術情報協会
巻/号	22巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 34-37
発行年月	1999年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

〔農林水産試験研究成果10大トピックス1998〕

シロアリは自分でセルラーゼを生産する

野田　博明※　渡辺　裕文※※　徳田　　岳※※※

シロアリは木材のセルロースを消化し自らのエネルギーを得ている。これまで，動物にはセルロースを消化する能力はなく，シロアリにおいても反芻動物と同様に消化管のなかの微生物がセルロースを分解していると考えられてきた。しかし，セルロース分解酵素（セルラーゼ）の遺伝子が，シロアリから単離され，シロアリ自身が酵素を作って，セルロースを消化していることが証明された。今後は，シロアリのセルロースを含む糖類の分解機構を解明し，シロアリの持つ潜在能力を利用できるような研究につなげていくことが期待される。

1. はじめに

昆虫類はじつに様々なものを餌として利用している。食物としてはほとんど利用価値のない木材や植物の遺体もシロアリにとっては重要な餌資源である。家屋害虫として嫌われるシロアリであるが，熱帯地方では有機物を分解して物質循環に寄与する重要な役目を担っている。シロアリの消化管の中にはセルラーゼと呼ばれるセルロース分解酵素があって，この酵素の働きでエネルギーを得ているわけである（図1）。

セルロースを分解する能力は，微生物や植物に見られ，動物はごく下等な無脊椎生物をのぞいて，セルロースを分解できないとされてきた。牛のような反芻動物では，草を構成するセルロースを分解できるが，これは胃の中にいる原生動物や細菌の働きによるものである。シロアリも消化管の中には共生微生物を多数持っており，反芻動物と同様に，この消化管の中の微生物がセルロースを分解しているとされてきた。消化共生の典型的な例として多くの教科書に取り上げられてきたのである。しかし，シロアリのセルロースの分解機構を解明する過程で，セルラーゼの遺伝子を解析し，その遺伝子はシロアリ自身が持っているものであることが判明してきた。

2. シロアリのセルラーゼ

セルロースとは，グルコースがつながった鎖状の高分子で，そのセルロースを加水分解する酵素がセルラーゼである。セルラーゼには三つのタイプがある。一つ目はエンドグルカナーゼ

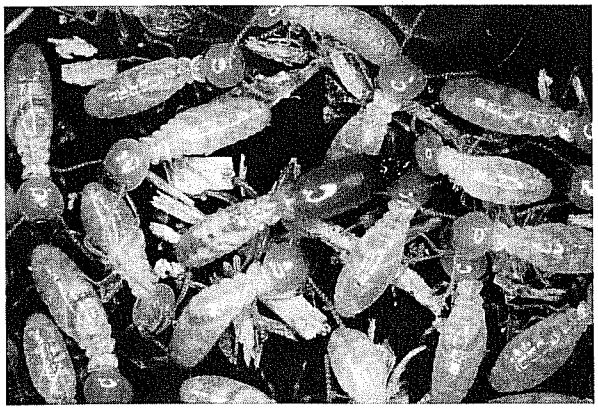

図1　ヤマトシロアリ
中央は兵アリ，その他は働きアリ

Hiroaki NODA , Hirofumi WATANABE and Gaku TOKUDA : Termites have their own cellulose digestive enzyme

で，一般にセルラーゼというとこの酵素をさす。この酵素はおもにセルロースの非結晶領域を分解し，セルロースの重合度を減少させる。残る二つはグルコシダーゼとセロビオハイドラーゼと呼ばれ，それぞれセルロースを違った方法で分解する。昆虫の消化管では，エンドグルカナーゼとグルコシダーゼが働いているといわれている[1]。

シロアリでは古くから消化管内の原生動物がセルラーゼを分泌しているといわれてきた。高温などにより原生動物を死滅させると，シロアリが育たなくなることから消化管内の原生動物の重要性が認識されていた[2]。しかし，日本の研究者で横江[3]は，ヤマトシロアリを使って後腸内の原生動物を除去しても，セルラーゼ活性が見られることを報告していた。また，山岡・長谷[4]は原生動物のセルラーゼとシロアリのセルラーゼが協調してセルロースを分解すると考えていた。さらに，オーストラリアのSlaytorら[5]は，シロアリ自身がセルラーゼの活性を持つことを強調していた。しかし，これらは共生微生物の重要性が広く知られている中にあっては，少数派の意見であった。

3. シロアリからのセルラーゼの精製

社会性昆虫であるシロアリは，他の昆虫が持たない，いろいろな機能を持っている。その中でも，セルロースの分解能はシロアリの特異な生活様式を支えている大きな要因の一つである。そこで，シロアリのセルロース分解作用を明らかにするために，セルラーゼの単離精製に取りかかった。下等シロアリであるヤマトシロアリ *Reticulitermes speratus* と高等シロアリであるタカサゴシロアリ *Nasutitermes takasagoensis* からCMC（カルボキシメチルセルロース）の分解活性を指標にエンドグルカナーゼを精製した。ヤマトシロアリからはYEG 1とYEG 2の二つの酵素が[6]，タカサゴシロアリからは一つの主要な酵素が[7]精製できた（図2）。精製されたこれらの酵素の特徴を調査し，重合度の高いセルロース分子に高い親和性を示すエンド型の酵素であることが確認できた。

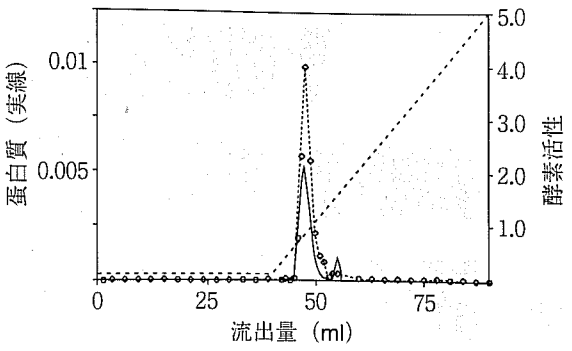

図2　タカサゴシロアリのセルラーゼの精製
ゲル濾過後の吸着クロマトグラフィーにより，単一ピークとして精製された。

4. 遺伝子の解析

ヤマトシロアリのセルラーゼYEG 2に対する抗体ができたので，抗体を利用して，セルラーゼ遺伝子（cDNA）のクローニングに取りかかった。一方，タカサゴシロアリのセルラーゼの遺伝子は，セルラーゼ蛋白のアミノ酸配列を部分的に解読し，そのデータを利用して遺伝子をクローニングした。

ヤマトシロアリのYEG 2のcDNAの全長は，約1.5Kbpで446アミノ酸がコードされていた。精製YEG 2のN末端のアミノ酸シーケンスの結果，YEG 2タンパク質は17番目のアミノ酸から始まっており，最初の16アミノ酸はリーダーシーケンスと推定された[8]。タカサゴシロアリのエンドグルカナーゼ遺伝子のcDNAの全長は約1.7Kbpで，448アミノ酸をコードしていた。酵素たんぱくのN末端のアミノ酸はアミノ酸配列の17番目から認められ，ヤマトシロアリの場合と同様に最初の16個はシグナルペプチドであった。

この2種シロアリのアミノ酸配列はよく似ていた。アミノ酸配列を相同性検索にかけたところ，細菌類のエンドグルカナーゼに近縁で，炭

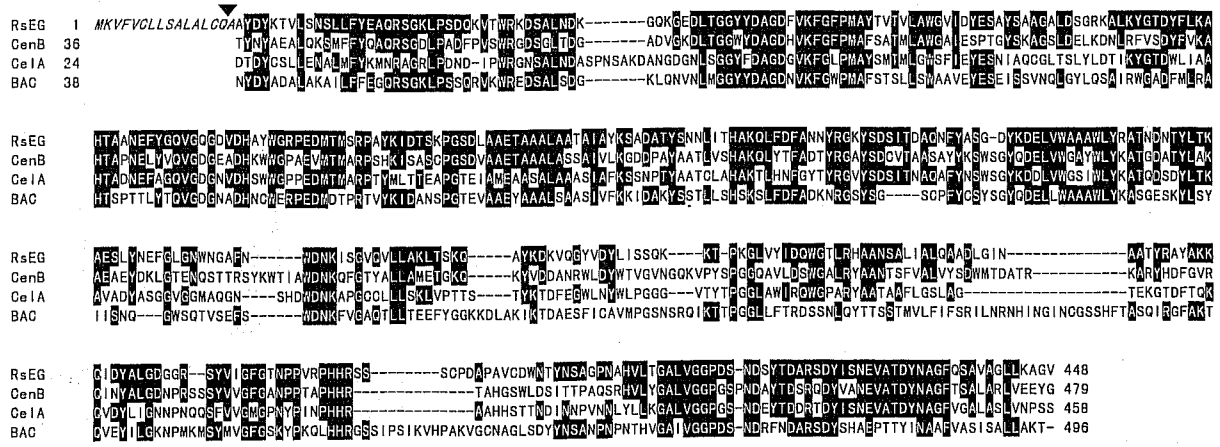

図3　ヤマトシロアリセルラーゼと同じファミリーに属するセルラーゼのアミノ酸配列の比較
RsEG，ヤマトシロアリセルラーゼ；Cen B，細菌 *Cellulomonas fimi*；Cel A，原生生物タマゴキイロホコリカビ；BAC，インゲンマメ。ヤマトシロアリセルラーゼの配列の最初の部分はシグナルペプチド。

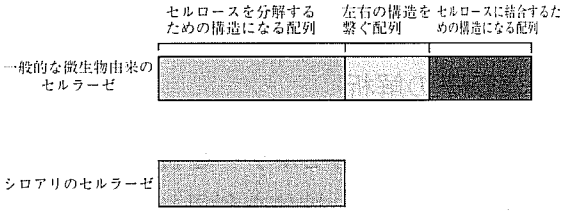

図4　セルラーゼの一次構造の模式図

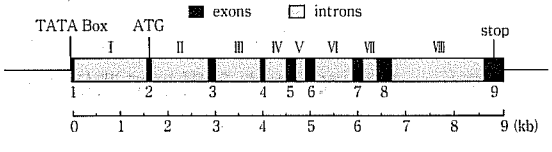

図5　タカサゴシロアリのセルラーゼのゲノム遺伝子の構造

水化物分解酵素のファミリー9に相当するということが判明した。また，細菌の一種である *Cellulomonas fimi* の *CenB* 遺伝子と相同性が高かった（図3）。しかし，ヤマトシロアリとタカサゴシロアリのエンドグルカナーゼは，これまで細菌で知られているものとくらべると，かなり小さかった。細菌エンドグルカナーゼは3つの部分（活性ドメイン，結合ドメイン，それらをつなぐ部分）からできているが[9]，シロアリのものでは，活性ドメイン相当の部分しか持っていなかった（図4）。これまでに，植物（アボガド，トマトなど）でそのようなタイプの酵素が知られている。これまでの研究から，シロアリ類のエンドグルカナーゼは，単系統群をなしており，同一起源のものから進化してきていることが判明している。

シロアリの核ゲノムの中のセルラーゼ遺伝子の配列を解析すると，ヤマトシロアリのものではイントロン配列が9個，タカサゴシロアリのものでは8個入っていて，遺伝子を分断していた（図5）。遺伝子の配列の中で，これらのイントロンの入っている位置は両シロアリのもので共通しており，このことも両シロアリの遺伝子が同じ起源のものであることを示している。

5. 昆虫でのセルロース消化の実態

これまで，昆虫でのセルロース消化が消化管のどこの部分で行われているか，そして，酵素はどこから分泌されているかについて，確定的なデータはなかった。シロアリの種によって，セルラーゼの作られる場所が違うことも問題を複雑にしていた。そこで，各組織（唾腺，中腸，後腸など）からmRNAを抽出後，RT－PCRを行った。その結果，ヤマトシロアリでは唾腺で，タカサゴシロアリでは中腸でしかPCR産物は増幅されず，セルラーゼはそれぞれ唾腺と中腸でだけ作られていることが判明した。抗体を用い

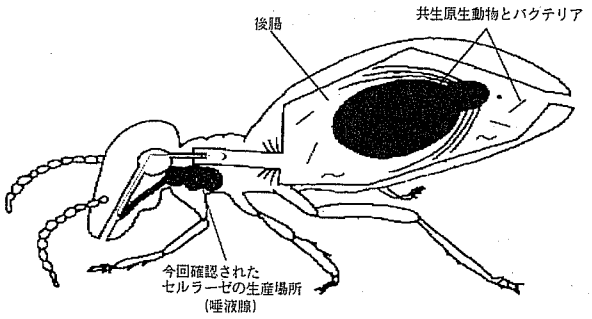

図6　ヤマトシロアリのセルラーゼ生産場所と共生微生物との関係

た免疫組織化学的手法や *In situ* hybridization という手法によっても，このことが確認された。この結果は昆虫自身がセルラーゼを作っていることを改めて証明している。

ヤマトシロアリのような下等シロアリでは，セルロース消化は主に後腸で行われていると考えられている。下等シロアリでは，原生生物を後腸に持っており，この共生微生物もセルラーゼを生産していると考えられている。今回の研究からは，唾腺で作られているセルラーゼが主要な働きをしていることが判明したが，今後，原生生物のセルラーゼがどのようなセルラーゼで，どのようにセルロース消化に係わっているかを検討する必要がある（図6）。

一方，高等シロアリであるタカサゴシロアリでは，中腸でセルラーゼ遺伝子が発現していた。このことは，下等シロアリから高等シロアリへと昆虫が進化していった過程で，セルロースの消化場所や組織での遺伝子発現の制御機構が変化していったことを示唆している。そして，高等シロアリでの食性の多様化，原生共生微生物の消失（下等シロアリは後腸に原生動物を持っているが，高等シロアリでは持っていない）などとも関係している可能性が高い。

6. 今後の研究

エンドグルカナーゼ遺伝子が昆虫から初めて取り出されて，解析された。これによって，シロアリ自身がセルラーゼを作っていることが証明できた。しかし，上でも述べたように，下等シロアリでは共生している原生動物などとの関係が，まだ十分分かっていない。また，原生生物を持たないタカサゴシロアリでは，どのようにセルロース消化系を構築しているのかを明らかにすることも必要である。シロアリでの実際の消化の機構は，まだこれから解き明かさねばならない。その他にも，昆虫の中にはおおくの糖分解酵素が存在している。これらがどのように係わって，消化機構ができているのかを分子レベルで解き明かして行くことは重要な課題である。また，これらの酵素が有効に利用されることも期待したい。

(※蚕糸・昆虫農業技術研究所　生体情報部
共生媒介機構研究室長，
※※科学技術振興事業団　派遣研究員，
※※※生物系特定産業技術研究推進機構　派遣研究員)

引用文献

1) Breznak, J.A. and Brune, A. (1994) Annu. Rev. Entomol. 39: 453-487
2) Cleveland, L.R. (1923) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 9: 424-428
3) Yokoe, Y.(1964) Sci. Papers Coll. Gen. Educ. Univ. Tokyo 14: 115-120
4) 山岡郁雄・長谷芳美 (1975) 動物学雑誌 84: 23-29
5) Slaytor, M. (1992) Comp. Biochem. Physiol. B103: 775-784
6) Watanabe, H. *et al.* (1997) Insect Biochem. Mol. Biol. 27: 305-313
7) Tokuda, G. *et al.* (1997) Zool. Sci. 14: 83-93
8) Watanabe, H. *et al.* (1998) Nature 394: 330-331
9) Beguin, P. and Aubert, J. (1994) FEMS Microbiol. Rev. 13: 25-58

〒305-8634　つくば市大わし 1 - 2
蚕糸昆虫農業技術研究所