シロアリ-微生物共生系の分子生態学的研究

(2003 年度農芸化学奨励賞受賞)

大熊盛也

(理化学研究所・生物基盤研究部微生物生態系機能解析室)

Key words: symbiosis; termite; culture-independent approach; microbial ecology

はじめに

異種生物間における共生は1種の生物がもちえない機能を互いに共有しあう生物戦略である。シロアリはさまざまな機能を有する微生物と共生関係を構築して、他の動物が利用できない枯死植物をたいへん効率良く資化して繁栄している昆虫である¹⁾。シロアリ-微生物共生系の理解と効率性をもたらす要因の解明は、バイオマス資源の有効利用のためにも学ぶべきものが多いと考える²⁾。生物種間の共生機構とその進化過程を解明することは新しい共生関係を構築して利用するなどの将来につながるかもしれない³⁾。

シロアリの消化管は非常に大きく、特に後腸に長く特有の肥大部をもってそこに微生物が高密度に生息している。これまでに、シロアリ腸内から木質成分の分解細菌など特定機能を有するさまざまな微生物が単離・培養されて、腸内共生系の理解に重要な貢献がなされてきたのは確かである⁴⁾。しかしながら、多くの自然界の微生物生態系と同じように、シロアリ腸内の共生微生物のほとんどのものは培養困難な微生物であることから、この共生システムの包括的な理解のためには従来の単離・培養に基づく微生物学的手法だけでは不十分と考えられた。そこで、分子生物学的な手法を適用し、培養によらずに共生微生物群を解析した。腸内の微生物群から培養を介さずに直接DNAを抽出し、リボソームRNA (rRNA) など生物種を特定できる遺伝子をPCR増幅後にクローニングして解析した。また、取得したrRNA遺伝子配列に特異的なプローブを作成し、細胞形態を保ったままの蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションにより由来生物種の検出と局在性も明らかとし

た。本稿では、主に原生生物を有する下等シロアリの腸内共生系について、単離・培養を介さない分子微生物生態学的なアプローチから見てきた共生微生物群の構成・構造と機能について概説する。

腸内共生微生物の機能

シロアリ腸内の原生生物によるセルロースの分解は、相利共生の例として古くから有名である。近年、シロアリ自身のセルラーゼが明らかとされたが⁵⁾、原生生物が必須かつ重要であることに変わりはない。セルロースは腸内の原生生物の細胞内に取り込まれ、そこで酢酸にまで分解される。生じた酢酸はシロアリに吸収されてシロアリのエネルギー源となる(図1参照)。

セルロース分解以外にも、シロアリは微生物と巧妙な共生関係を確立している⁶⁾。分解の副産物として H_2 と CO_2 が生ずるが、腸内にはメタン生成古細菌が共生していて H_2 と CO_2 からメタンを生成する。しかしながら、特に食材性のシロアリの場合、メタン生成よりもむしろ、 H_2 と CO_2 から還元的に酢酸が生成する⁷⁾。生じたメタンはシロアリに利用されることはないが、酢酸はシロアリに吸収利用されるので、実に効率の良い理想的なシステムである^{8), 9)}。

植物遺体は窒素源が極めて乏しく、窒素源の確保はシロ

図1 シロアリ腸内における共生微生物の働き

アリにとって大切な問題である。シロアリ自身の窒素老廃物である尿酸は、腸内の共生微生物によって分解・再利用されて捨てられることはないが、腸内に共生する窒素固定細菌は新たな窒素源を獲得するので最も重要と考えられる⁶⁾。

リグニンの分解はキノコシロアリ（後述）の場合を除いては、否定的であるが、リグニンを構成する芳香族化合物の分解細菌が腸内から単離されている⁶⁾。このほかにも木質成分や難分解性芳香族化合物の分解細菌などの応用面でも期待される微生物種が数多く単離・解析されている^{10), 11)}。

真核生物の進化初期に分岐した共生原生生物

シロアリは原生生物を容易に観察するための優れた材料でもある。これら腸内の原生生物は、超鞭毛虫目、トリコ

モナス目、オキシモナス目に分類され、前2者は形態上の特徴からパラバサリア門としてまとめられている。超鞭毛虫目、オキシモナス目の原生生物は下等シロアリとその近縁の食材性昆虫（キゴキブリ）の一部にだけ見られ、これらを初めて分子系統学的に解析した^{12), 13)}。

超鞭毛虫目、トリコモナス目の原生生物は、互いに近縁な系統関係であり、パラバサリア門の単系統性を確認した。数多くの超鞭毛虫目、トリコモナス目の small-subunit rRNA 遺伝子配列を解析した結果^{14), 15)}、より複雑な細胞体制を有する超鞭毛虫の中から鞭毛数の減少と細胞内構造の単純化を伴ってより単純なトリコモナス目原生生物が生じてきたという、形態学的に従来考えられていたのとは逆の進化過程が推定された。また、パラバサリア門の原生生物は、メタモナダ門のものとともに真核生物の中で最も初期に分岐した生物であった^{12), 16)}。これらの原生生物は、嫌気性で、細胞内にミトコンドリアを有していないが、パラバサリア門の原生生物は嫌気性のエネルギー産生器官であるハイドロゲノソームを有している。オキシモナス目原生生物は、ミトコンドリアもハイドロゲノソームも有していないという特徴から、従来メタモナダ門に分類されていたが、分子系統ではメタモナダ門とはかけ離れた関係であった¹⁷⁾（図2A）。むしろ、細胞内に退化したハイドロゲノソーム様小器官が認められている *Trimastix* 属の原生生物と近縁であり^{13), 18)}、二次的にこの細胞内小器官を失ったものかもしれない。シロアリ腸内原生生物は、セルロース分解のほかにも、真核生物の初期進化やオルガネラといった視点からも興味深い研究対象である^{6), 19), 20)}。

腸内共生系は新規微生物種の宝庫

シロアリ腸内共生系を構成する原核生物の多様性について、数多くの 16S rRNA 遺伝子のクローンを解析することにより培養に依存しない方法で調べた^{21)~28)}。ヤマトシロアリの腸内原核生物は、メタン生成古細菌のほか、スピロヘータ群、*Bacteroides* 属に近縁の細菌群、および *Clostridium* 属などのグラム陽性低 GC 含量細菌群が主なものであった。特にスピロヘータ群は真正細菌由来のクローンの半数以上を占める場合もあり、腸内の主な微生物群である（図3）。また、約1割のクローンは既知の真正細菌のどのグループにも分類することができないようなグループ（Termite Group I と命名²²⁾）を形成していた。種を分ける指標とされる 16S rDNA 配列で 97% 以上の相同性のものを phylotype として一つにまとめると、現在までに 2000 クローン程度を解析し終え、300 以上の phylotype を得ている^{27), 28)}。このうちの9割以上のものが既知の 16S rDNA とは phylotype レベルで異なる新規なものであ

図2 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションによる原生生物種の同定と細胞表層のスピロヘータの検出

A は、オキシモナス目原生生物の特異的検出。位相差顕微鏡像（左）と SSU rRNA をターゲットとする特異的プローブ（緑）による検出（中央）、および、すべてのオキシモナス目原生生物を検出するプローブ（赤）によるコントロール（右）。左図の矢尻は検出した小型の *Pyrsonympha grandis*。スケールは 50 μ m。B は、オキシモナス目原生生物 *Dinomyces* spp. の細胞表層に付着するスピロヘータの検出。左上はノーマルスキー顕微鏡像。共生スピロヘータの二つの系統群（図3を参照）を識別するプローブによる検出。Cluster I は赤、Cluster II は緑で共焦点レーザー顕微鏡にて検出した。一つの原生生物細胞に、両方の系統群のスピロヘータが混在していることがわかる。

図3 シロアリ腸内に共生するスピロヘータの16S rRNA 遺伝子配列による分子系統

シロアリ腸内のスピロヘータはCluster IとCluster IIの二つの系統群に大別された。クローン名の後のカッコ内の数値は、そのクローンが代表するphylotypeに属する取得クローン数を示す(全566のスピロヘータのクローンを解析²⁷⁾)。クローン数6以上のphylotypeのみを使って系統樹を作成した。アウトグループには*Treponema*, *Spirochaeta*属以外のスピロヘータを用いた(記載は省略)。背景が白抜きのクローンは、原生生物の細胞表層に付着するスピロヘータから取得したクローン³⁰⁾。RsDiSpのシリーズはヤマトシロアリのオキシモナス目原生生物*Dinenympha porteri*, HsPySpのシリーズはオオシロアリのオキシモナス目原生生物*Pyrronympha* sp.からそれぞれ取得したもの。系統樹上、原生生物の細胞表層のスピロヘータに近接するphylotypeは数多くのクローンが取得されており、腸内での主なスピロヘータ種となっている。

た。これらの結果は、シロアリ腸内のほとんどのものが、これまでに単離・培養されたことのない。したがって、微生物研究者には未知の新規な微生物群であるということを示している。シロアリ腸内からは、これまでにさまざまな機能を有する原核生物が数多く単離され解析されているが、単離された微生物種についても、新属新種が多く報告されている。シロアリの腸内共生系は新しい未知の微生物の宝庫なのかもしれない^{9), 19)}。

腸内の微生物群集の構造

シロアリ腸内の共生微生物は決して一様に分布しているわけではない。メタン生成古細菌は、ある種の原生生物の細胞内、あるいは、シロアリの腸壁に付着して存在していた。両者を分画してrRNA遺伝子を調べると、どちらも*Methanobrevibacter*属に分類されるものであったが、両者では明らかに異なる種であった²⁹⁾。また、いくつかの原生生物の細胞表層には、スピロヘータを付着させているものが観察される(図2B)。1種の原生生物細胞に複数種のスピロヘータ種が付着しており、原生生物種を超えて同種のスピロヘータ種が付着している場合も認められた^{30), 31)}。腸内には、原生生物に付着しない自由生活型のスピロヘータも顕著に認められるが、スピロヘータ種によって付着共生型と自由生活型という存在様式は異なっているようである。原生生物の細胞内・細胞表層にはメタン生成古細菌でもスピロヘータ種でもない細菌が高密度で生息しており、腸内に共生する原核生物の大きな割合を占めている³²⁾。

シロアリの共生微生物は、原生生物の細胞内・表層やシロアリの腸壁に分布する微生物群集など、それぞれが異なる局在・分布をしているようである。したがって、いくつかの微生物間、微生物-シロアリ間の共生関係が積み重なった、多重共生と呼ぶのにふさわしいシステムと考えられた^{2), 32)}。特に、真核生物の出現初期に分岐した原生生物との細胞レベルでの共生は進化学的観点から興味深い。既知の*Methanobrevibacter*属のメタン生成細菌は、原生生物によるセルロース分解の際に生成するH₂とCO₂のみを基質とするものがほとんどであり、種間水素転移の共生関係が容易に想像される。最近、シロアリ腸内から還元的酢酸生成細菌としてスピロヘータの単離が報告され³³⁾、H₂生成者の原生生物と消費者としてのスピロヘータという種間水素転移による細胞共生関係の可能性も考えられる²⁰⁾。

微生物の分布ばかりでなく、物理化学的にも腸内は決して均一な環境ではない。微小電極を用いた研究から³⁴⁾、腸内は全く酸素のない嫌気状態ではなく腸壁付近に微好気的な環境が存在し、腸壁を通して常にある程度の酸素が腸内に供給されていることが推定される。水素についても、高分圧の腸の中心部から腸壁に向けて急な濃度勾配が確認されている。シロアリの腸内はたいへん小さいけれども複雑な構造をしているのである。*In situ*での微生物の分布を調べたり、局所的な生物活性・機能を解析していくこと(微小生態学)が今後この共生系を真に理解するのに重要と考えられる^{2), 9)}。

rRNA を超えて機能へー共生窒素固定細菌の解析

rRNA 遺伝子の解析を通して、共生微生物群集を単離・培養を介さずに研究することができるようになったが、メタン生成古細菌など一部の生物群を除いて一般に rRNA 遺伝子配列の情報だけでは、その機能を推定することは困難である。そのような場合、ある特定機能に着目して、当該機能に密接にかかわる機能遺伝子を rRNA の代わりに用いて微生物群集を解析することは有効と考えられる^{6), 20)}。

窒素固定遺伝子 *nifH* を用いてシロアリ腸内共生微生物について解析を行った^{35)~38)}。共生微生物から得られる *nifH* 遺伝子配列は、*Clostridium* 属など嫌気性細菌に代表される Anaerobe グループ、または、ニトロゲナーゼの金属補因子の異なる代替ニトロゲナーゼ (Anf) グループのいずれかがほとんどであった。窒素固定には機能しない（おそらく他の働きがある）Pseudo-*nif* グループのものも取得された。腸内共生系から得た *nifH* 遺伝子の大半はこれまでに報告されている *nifH* 遺伝子とはかなり異なるもので、固有の新規の窒素固定細菌の存在が推定された^{35), 36)}。高い窒素固定能が認められる食材性のシロアリでは、検出されるほとんどの *nifH* 遺伝子が Anf グループのもの、Anaerobe グループだけのもの、両者を有しているものといったように、シロアリの科によって、共生微生物の窒素固定遺伝子に有意と思われる傾向が見てとれ、シロアリのライフスタイルの多様化と関連して興味深い³⁶⁾。

一般に、窒素固定遺伝子の発現は厳密に制御されているので、腸内の共生系で発現している *nifH* 遺伝子の mRNA を検出・解析した^{37), 38)}。コウシュンシロアリの場合、驚いたことに、共生微生物のゲノム DNA から取得した多様な *nifH* 遺伝子のうち、mRNA として検出できるものは限ら

れており、ほとんどが Anf グループのものであった³⁷⁾ (図 4)。したがってこのグループの *nifH* 遺伝子を有する微生物種が、ほかにも潜在的に機能を果たしうる微生物種がいるのにもかかわらず、腸内の窒素固定に優先的に働いていると考えられた。この結果は、一般の微生物生態系の機能を解析するうえで、機能遺伝子の mRNA を解析する重要性を認識させられる意義深いものであった^{19), 20)}。機能遺伝子がゲノム DNA に存在していても、潜在的な機能を検出しただけであり、発現して機能を果たしているかを実際に確かめなければならない。さらに言えば、単離した菌株が実験室内で示す性質も、自然環境中でその機能を発現しているかをきちんと解析しなければ真の理解は果たせないということを意味するのではなかろうか。

この Anf グループの *nifH* 遺伝子の発現を定量的に追ってみると³⁷⁾、この遺伝子は、コウシュンシロアリの食餌中の窒素源の有無により明確な転写制御を受けていたが、通常のニトロゲナーゼの金属補因子モリブデン (Mo) の有無には影響を受けなかった。一般の窒素固定細菌では、Anf グループのニトロゲナーゼは、補因子として Mo がない状況でも窒素固定をするための代替酵素であるが、このシロアリの腸内では Mo の存在によらず Anf グループのニトロゲナーゼを利用して窒素固定をしているようである。

さまざまなシロアリ共生系

これまで紹介してきた研究は下等シロアリを用いたものであったが、熱帯地域にいくとより繁栄しているのは多様なライフスタイルをもった高等シロアリである³⁹⁾。原生生物との共生を捨て、巣内でキノコを栽培するもの、土壌中のヒューマスに食性を変化させていったものなどさまざまである。なかには腸内を pH 10 以上までもアルカリにしているものもあり、そこに生息する好アルカリ性微生物の働きと生態に興味もたれる。

巣内で *Termitomyces* 属の担子菌（キノコ）を栽培するシロアリは、このキノコと巧妙な共生関係を構築し、植物遺体のほとんどすべての成分を分解している^{2), 40)}。 *Termitomyces* の新規のリグニン分解関連酵素とその遺伝子を解析し⁴¹⁾、また、栽培される *Termitomyces* 種の分子系統を解析し、宿主のシロアリ種との関係を調べた⁴²⁾。巣内ではほぼ 1 種の *Termitomyces* が栽培されているようであり、世代を超えてどのように共生キノコが受け継がれ、純粋に栽培されて、効率良く分解が果たされていくのか興味深い共生系である。

高等シロアリでは、下等シロアリとは明らかに異なるグループのメタン生成細菌も腸内に生息しており²⁴⁾、腸内の共生微生物群もかなり異なることが予想される。窒素固定

図 4 コウシュンシロアリ腸内の共生微生物の DNA および RNA から増幅した *nifH* 遺伝子の T-RFLP 法による解析 (文献 37 より改変)

DNA から増幅した多様な *nifH* 遺伝子のうち、RNA からは一部のみが検出されている。矢尻で示したピークに相当する *nifH* 遺伝子配列は、Anf グループに属するアミノ酸配列で 99% 以上同一の遺伝子に由来する。

遺伝子がさまざまなシロアリで異なることは上述した。いくつかのシロアリについて、スピロヘータ群, *Bacteroides* 属に近縁の細菌群の rRNA 遺伝子配列を解析して比較すると、シロアリの属が異なるとこれら腸内微生物のほとんどは phylotype レベルで異なっていた^{25), 26)}。地球上に 280 属以上ものシロアリが現存することを考えると、莫大な未知微生物種がシロアリ腸内に生息しているのかもしれない。さまざまなタイプのシロアリについて共生微生物の多様性と機能が明らかにされて、シロアリ共生系の変遷と共進化が解き明かされていくことが期待される⁴³⁾。

おわりに

微生物の単離・培養を介さないアプローチにより、ようやくシロアリ腸内共生系の全貌が見渡せるようになってきた。その結果、小さいけれどもシロアリ腸内には数多くの未知微生物種が複雑な微生物群集構造を作り上げて共生していることが明らかとなった。共生微生物の局在や分布と、局所的な生物活性・機能を結びつけて統合的にこのシステムを理解していくことが今後の課題である。より多くの機能に関連した遺伝子を解析し、rRNA 遺伝子配列による生物種の記載から、機能についての研究へと発展させていきたい。現在、還元的酢酸生成に関連した機能遺伝子の解析を進めている。セルロース分解にかかわる遺伝子についても、腸内の原生生物まるごとの cDNA ライブラリーから取得を行っており⁴⁴⁾、培養を介さずにそのゲノム情報へとアプローチすることは、新機能の探索という方面からまたいへん期待される。この共生系の主なメンバーを単離・培養して解析することも大切であろう。自然界の生態系は、一般に多かれ少なかれ複数の生物種から構成される複合・複雑系であり、多くは未知微生物からなる。どの生態系を理解するうえでも本研究と同様な手法・視点は重要と考えられ⁴⁵⁾、未知で莫大な自然界の微生物資源を開拓・利用する道につながるものと期待される⁴⁶⁾。

本研究は理化学研究所生物基盤研究部微生物生態系機能解析室(旧微生物学研究室)において行われたものであり、本研究の機会をいただき終始暖かくご指導いただきました理化学研究所生物基盤研究部部長 工藤俊章先生に心より御礼申し上げます。本研究は共同研究者の皆様のご協力によるものであり、心より感謝いたします。研究室の皆様、ご助言を賜りました先生方、基礎からのご指導と永年にわたる激励をいただきました東京大学農学系大学院細胞遺伝学研究室の諸先生方に深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会関東支部長の北原 武先生ならびに関係の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

- 1) T. Abe, D. E. Bignell, and M. Higashi (ed.): "Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology," Kluwer Academic Press, Netherlands, 2000.
- 2) M. Ohkuma: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **61**, 1-9 (2003).
- 3) M. Ohkuma: *RIKEN Rev.*, **41**, 69-72 (2001).
- 4) J. A. Breznak and A. Brune: *Annu. Rev. Entomol.*, **39**, 453-487 (1994).
- 5) H. Watanabe, H. Noda, G. Tokuda, and N. Lo: *Nature*, **394**, 330-331 (1998).
- 6) 大熊盛也, 守屋繁春, 工藤俊章: 蛋白質・核酸・酵素, **43**, 1237-1245 (1998).
- 7) A. Brauman, M. D. Kane, M. Labat, and J. A. Breznak: *Science*, **257**, 1384-1387 (1992).
- 8) 大熊盛也: 農化, **77**, 134-136 (2003).
- 9) 大熊盛也, 工藤俊章: バイオサイエンスとインダストリー, **60**, 671-674 (2002).
- 10) H. König, J. Fröhlich, M. Berchtold, and M. Wenzel: *Recent Res. Devel. Microbiol.*, **6**, 125-156 (2002).
- 11) K. Horikoshi, M. Fukuda, and T. Kudo (ed.): "Microbial Diversity and Genetics of Biodegradation," Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1997.
- 12) M. Ohkuma, K. Ohtoko, G. Gristoph, S. Moriya, and T. Kudo: *J. Eukaryot. Microbiol.*, **45**, 439-444 (1998).
- 13) J. B. Dacks, J. D. Silberman, A. G. B. Simpson, S. Moriya, T. Kudo, M. Ohkuma, and R. J. Redfield: *Mol. Biol. Evol.*, **18**, 1034-1044 (2001).
- 14) M. Ohkuma, K. Ohtoko, T. Iida, M. Tokura, S. Moriya, R. Usami, K. Horikoshi, and T. Kudo: *J. Eukaryot. Microbiol.*, **47**, 249-259 (2000).
- 15) D. Gerbod, C. Noël, M. F. Dolan, V. P. Edgcomb, O. Kitade, S. Noda, F. fufernezz, M. Ohkuma, T. Kudo, M. Capron, M. L. Sogin, and E. Viscogliosi: *Mol. Phylogenet. Evol.*, **25**, 545-556 (2002).
- 16) S. Moriya, K. Tanaka, M. Ohkuma, S. Sugano, and T. Kudo: *J. Mol. Evol.*, **51**, 6-16 (2001).
- 17) S. Moriya, M. Ohkuma, and T. Kudo: *Gene*, **210**, 221-227 (1998).
- 18) S. Moriya, J. B. Dacks, A. Takagi, S. Noda, M. Ohkuma, W. F. Doolittle, and T. Kudo: *J. Eukaryot. Microbiol.*, **50**, 190-197 (2003).
- 19) M. Ohkuma: in "Symbiosis: Mechanisms and Model Systems," ed. by J. Seckbach, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2002, pp. 717-730.
- 20) 大熊盛也, 野田悟子, 守屋繁春, 工藤俊章: 化学と生物, **39**, 542-548 (2001).
- 21) M. Ohkuma, S. Noda, K. Horikoshi, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Lett.*, **134**, 45-50 (1995).
- 22) M. Ohkuma and T. Kudo: *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 461-468 (1996).
- 23) M. Ohkuma and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Lett.*, **164**, 389-395 (1998).
- 24) M. Ohkuma, S. Noda, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Lett.*, **171**, 147-153 (1999).
- 25) M. Ohkuma, T. Iida, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Lett.*, **181**, 123-129 (1999).
- 26) M. Ohkuma, S. Noda, Y. Hongoh, and T. Kudo: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 78-84 (2002).
- 27) Y. Hongoh, M. Ohkuma, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **44**, 231-242 (2003).
- 28) Y. Hongoh, H. Yuzawa, M. Ohkuma, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Lett.*, **221**, 299-304 (2003).
- 29) M. Tokura, M. Ohkuma, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **33**, 233-240 (2000).

- 30) T. Iida, M. Ohkuma, K. Ohtoko, and T. Kudo: *FEMS Microbiol. Ecol.*, **34**, 17-26 (2000).
- 31) S. Noda, M. Ohkuma, A. Yamada, Y. Hongoh, and T. Kudo: *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 625-633 (2003).
- 32) 大熊盛也, 工藤俊章: バイオサイエンスとインダストリー, **58**, 9-10 (2000).
- 33) J. R. Leadbetter, T. M. Schmidt, J. R. Graber, and J. A. Breznak: *Science*, **283**, 686-689 (1999).
- 34) A. Brune and M. Friedrich: *Curr. Opin. Microbiol.*, **3**, 263-269 (2000).
- 35) M. Ohkuma, S. Noda, R. Usami, K. Horikoshi, and T. Kudo: *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2747-2752 (1996).
- 36) M. Ohkuma, S. Noda, and T. Kudo: *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4926-4934 (1999).
- 37) S. Noda, M. Ohkuma, R. Usami, K. Horikoshi, and T. Kudo: *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4935-4942 (1999).
- 38) S. Noda, M. Ohkuma, and T. Kudo: *Microb. Environ.*, **17**, 139-143 (2002).
- 39) 工藤俊章, 大熊盛也: バイオサイエンスとインダストリー, **56**, 163-168 (1998).
- 40) M. Ohkuma, Y. Maeda, T. Johjima, and T. Kudo: *RIKEN Rev.*, **42**, 39-42 (2001).
- 41) T. Johjima, M. Ohkuma, and T. Kudo: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **61**, 220-225 (2003).
- 42) Y. Taprab, M. Ohkuma, T. Johjima, Y. Maeda, S. Moriya, T. Inoue, P. Suwanarit, N. Noparatnaraporn, and T. Kudo: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 1159-1163 (2002).
- 43) M. Ohkuma, S. Noda, Y. Hongoh, and T. Kudo: *RIKEN Rev.*, **41**, 73-74 (2001).
- 44) K. Ohtoko, M. Ohkuma, S. Moriya, T. Inoue, R. Usami, and T. Kudo: *Extremophiles*, **4**, 343-349 (2000).
- 45) 大熊盛也: 生物工学会誌, **80**, 248 (2002).
- 46) 大熊盛也, 工藤俊章: バイオサイエンスとインダストリー, **54**, 649-650 (1996).

プロフィール

大熊盛也 おおくま・もりや

理化学研究所生物基盤研究部微生物生態系機能解析室・副主任研究員

〈略歴〉 1993年3月東京大学農学系大学院応用生命工学専攻博士課程修了

1994年3月まで日本学術振興会特別研究員

1994年4月理化学研究所微生物学研究室研究員組織再編等をへて現在に至る。

〈研究テーマ〉 細胞共生のメカニズムの解明, 共生微生物の機能と進化の研究, 共生システムの分子微生物生態学的研究, 新規微生物と有用機能の探索。