

沼沢スイギュウ由来繊維分解性細菌

Ruminococcus flavefaciens OS14 の機能および生態

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 動物機能栄養学 金城 円花

1. 背景と目的

地球上最大のバイオマスである植物資源の有効利用を図る上で、植物繊維の主成分であるセルロースを効率的に分解する微生物の探索および機能を評価する意義は大きい。強力な繊維分解能を有する微生物として、「セルロソーム」と呼ばれる繊維分解酵素複合体を形成する菌が着目されている。反芻動物の第一胃（ルーメン）には多種多様な繊維分解菌が生息しており、そのうち *Ruminococcus flavefaciens* がセルロソーム生産菌として知られている。本研究では、沼沢スイギュウルーメンから分離した *R. flavefaciens* OS14 株（以下、OS14）について、タイと日本における分布量の解明ならびに *in vitro* および *in silico* 解析を通して繊維分解に関連する機能の評価をおこなった。

2. 方法

1) 分布の評価 OS14 の 16S rDNA 塩基配列に基づいて OS14 特異的プライマーを設計し、real-time PCR による定量系 (qPCR) を確立した。タイと日本の反芻家畜計 84 頭のルーメン内容物について OS14 の分布量を測定した。

2) *in vitro* 機能評価 セルロースおよび熱帯地域で反芻家畜飼料として利用されるイナワラ、パラグラス、ネピアグラスを基質として乾物消化率を測定した。また、パラグラスを基質として乳酸利用菌 *Selenomonas ruminantium* S137 株と共培養し、発酵代謝産物を測定した。

3) *in silico* 機能評価 OS14 の全ゲノムを解読し、アミノ酸配列をデータベースと照合することで糖質加水分解酵素ファミリーの保有数を検討した。また、セルロソーム型酵素であるかどうかの分類をおこなった。

3. 結果と考察

OS14 は 84 頭中 11 頭のタイの反芻家畜（沼沢スイギュウ、タイ在来種牛、シカ）に分布しており、日本のウシ（ホルスタイン、ブラウンスイス、黒毛和種）には存在していなかったことから、OS14 の分布には地理的制限が存在することが示唆された。OS14 は全ての基質の乾物消化率で *R. flavefaciens* 基準株 C94 株（以下、基準株）より高く、優れた繊維分解能を示した。また極めて高い乳酸生成能をもっていた。さらに乳酸利用菌 *S. ruminantium* S137 株との共培養時、乳酸からのプロピオン酸生成が活発に見られ、OS14 は乳酸利用菌と代謝的協調関係を築くことが示された。基準株と OS14 を比較すると、ゲノムの糖質加水分解酵素 (GH) 保有数においてはファミリー11 (GH11) が両菌株とも最多で 15 コピーあったが、セルロソーム型酵素の保有割合が OS14 と基準株で異なり、基準株ではセルロソーム型の GH11 が 67%だったのに対し、OS14 では 40%であった。GH11 はセルロソーム生産菌においては主要な糖質加水分解酵素の一つであることから、OS14 の繊維分解戦略は基準株とは異なる可能性が考えられる。以上より、沼沢スイギュウ由来繊維分解性細菌 *R. flavefaciens* OS14 株に関し、分布特性を明らかにし、機能特性の一部を解明した。本菌株および保有遺伝子や酵素などの情報は、将来の産業的応用への基盤になりうると思われる。