

論文の内容の要旨

専攻名 システム創成工学専攻

氏名 櫻岡 良平

多くの細菌は、他の微生物の生育や増殖に対して阻害効果を有する抗菌物質を生産する。抗菌物質は、病原菌の増殖を抑制することが可能であることから、様々な植物や動物の感染症予防技術への応用が期待されている。細菌の種類により、生産する抗菌物質の種類や数は多種多様であり、効果的な病原菌防除技術を確立するためには、対象となる病原菌に応じて適切な抗菌物質を生産する細菌を育種する必要がある。一方で、特に農業分野では、多くの細菌は実験室レベルでは安定した抗菌物質生産を示すものの、実際の環境中では期待される病原菌防除効果が得られないケースが多々報告されている。この理由として、細菌の抗菌物質生合成遺伝子は、複雑な遺伝子発現機構に制御されている点が挙げられる。近年、生物の遺伝情報の解析技術が飛躍的に発展しており、個々の生物の全遺伝情報であるゲノム配列を決定し、他の生物のゲノム配列と比較することで、生物的機能の相違を明らかにする比較ゲノム解析が広く行われるようになってきた。本論文では、比較ゲノム解析を用いて、細菌の抗菌物質生合成遺伝子クラスター及びその発現制御機構の多様性を明らかにすることで、抗菌物質による微生物制御技術開発に向けた基礎的知見を得ることを目的とした。

本論文は、4章で構成されており、各章の概要は以下のとおりである。

第1章は序論であり、本論文に関係する細菌による抗菌物質生産、細胞間コミュニケーション機構Quorum Sensing (QS)、比較ゲノム解析に関する学術的背景を述べている。

第2章では、「*Serratia marcescens*におけるQuorum Sensing及びプロディジオシン生合成遺伝子の比較ゲノム解析」と題した研究内容について述べている。ある種の細菌は、細胞密度の増加を感知して特定の遺伝子発現を制御するQS機構を有しており、多くのグラム陰性細菌では、QSのシグナル物質としてアシル化ホモセリンラクトン (AHL) を用いている。*S. marcescens*は、赤色を呈する抗菌物質であるプロディジオシンを生産することで古くから知られている。このプロディジオシン生産は、AHLを介したQSに制御される報告もある一方で、QSを持たないがプロディジオシンを生産する株や、プロディジオシンを生産しない臨床分離株など、多種多様な株が存在することが明らかになっている。本章では、土壌から単離した*S. marcescens* AS-1株について、次世代シーケンサーにより全ゲノム配列を決定し、国際塩基配列データベースに登録されている*S. marcescens* 34菌株の全ゲノム配列と比較ゲノム解析を行うことで、QS制御遺伝子及びプロディジオシン生合成遺伝子クラスター (*pig*クラスター) の多様性と分布を調査した。その結果、AHL合成遺伝子とAHLレセプター遺伝子の塩基配列及びゲノム上の配置はそれぞれ4つのパターンに分類可能であり、*pig*クラスターはゲノム配列の相同性が近い一部のグループのみが有しているものの、QSとの関係性は見られなかった。また、AS-1株のみ、AHL合成遺伝子が内在性プラスミド

上に存在しており、その周囲にはトランスポゾン様配列が存在していた。まとめとして、AS-1株によるプロディジオシンの生合成は、元々はQSに制御されていなかったが、トランスポゾン転移によりプラスミド上にQS制御遺伝子を獲得したことで、プロディジオシン生産がQSの制御下になった可能性が考えられると結論付けた。

第3章では、「蛍光性*Pseudomonas*属細菌における抗菌物質生合成遺伝子の比較ゲノム解析」と題した研究内容について述べている。植物を病害から防除する能力を有する細菌は、植物保護細菌と呼ばれている。植物保護細菌には様々な菌種が知られているが、その中でも蛍光性*Pseudomonas*属細菌は、多種多様な抗菌物質を生産し、高い植物保護効果を有することが報告されている。先行研究では、日本各地から採取した植物の根から単離し、抗菌物質生合成遺伝子を有する蛍光性*Pseudomonas*属細菌が、10種類の操作的分類単位 (OTU) に分類できることを明らかにしている。これらの菌株による植物保護効果について、キャベツと植物病原菌*Rhizoctonia solani*を用いたアッセイ系で調べたところ、2,4-ジアセチルフロログルシノール (PHL)、ピロールニトリン (PRN)、ピオルテオリン (PLT) を生産するOTU HLRと、フェナジン (PHZ) とPRNを生産するOTU RZに分類される株の多くが高い植物保護効果を示すことが明らかとなった。次に、10種類のOTUの代表株の全ゲノム配列を決定し、比較ゲノム解析を行ったところ、OTU HLRに属する菌株の中に、PLT生合成遺伝子クラスターが欠落したBoi14株、PRN生合成遺伝子クラスターが欠落したEq60株が含まれていることが明らかとなった。特にEq60株は、高い植物保護効果を有するOTU HLRの中で唯一、植物保護効果が見られない株である。さらに、同じく高い植物保護効果を有するOTU RZにおいては、PRN生合成遺伝子クラスターが完全な形で保存されていた。以上の比較ゲノム解析から、*R. solani*に対する植物保護効果には、抗菌物質の中でも特にPRNの生産が重要であると結論付けた。

第4章では、本論文の成果をまとめ、全体の結論と将来の研究展望について言及した。