



Title	Molecular Systematic Studies of the Phototrophic and Non-Phototrophic Bacteria in the $\alpha$ -Proteobacteria
Author(s)	Cantera, Jose Jason Laudato
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44925">https://hdl.handle.net/11094/44925</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	カンテラ ホセ ジェイソン ラウダト Cantera, Jose Jason Laudato
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 18065 号
学位授与年月日	平成 15 年 7 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	Molecular Systematic Studies of the Phototrophic and Non-Phototrophic Bacteria in the $\alpha$ -Proteobacteria ( $\alpha$ Proteobacteria の光合成細菌と非光合成細菌の分子系統に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 関 達治 (副査) 教授 原島 俊 教授 金子 嘉信 助教授 横田 明

## 論文内容の要旨

本論文は、光合成細菌とその関連細菌について、分子系統分類学的研究を行ったものであり、六章より構成されている。

第一章は、本論文の研究対象である光合成細菌について、その生理・生化学・分類・分子系統について記述している。第 1 項では、光合成について記載し、第 2 項では、光合成微生物の生理・生化学について、第 3 項では、研究対象とした嫌気性光合成細菌である紅色非イオウ細菌の生理、生化学、ならびにその分類と分子系統について述べられている。第 4 項では、光合成細菌を中心とした  $\alpha$  Proteobacteria 内の分類学的問題点について記述し、それを解決するための著者の考えが述べられており、本研究を行うに至った経緯と、その目的が記述されている。具体的には、光合成細菌がその光合成という機能を有しているにも係わらず、現在最も有用な分類学的指標とされている 16S rDNA の分子系統において、光合成細菌のその系統学的位置は、光合成能を有しない細菌と隔たりはない。この知見を踏まえ、分類学的にどのように整理していかねばならないか問題を抱えている。農業的にも工業的にも有用な細菌が多く属している Proteobacteria の分類体系の構築は重要な課題であり、本論文で着目した光合成細菌と非光合成細菌の分類体系の再構築も残された課題の一つである。本論文は、それらに対し、複数の機能分子に着目し、それらの分子系統解析から、新しい分類体系の方向性を見出すことを目的に行ったことを記述している。最後の項では、論文で注目した光合成細菌の二つの機能、イソプレノイド化合物の合成と窒素固定について、生化学的ならびに分子生物学的知見について記述されている。

第二章では、3 種の光合成細菌について、分子系統学の新たな指標として着目した Farnesyl diphosphate synthase (FPPS) 遺伝子のクローニングについて記述し、その分子系統解析結果について考察している。それを踏まえ、FPPS 遺伝子が細菌の分子系統を表わすことのできる分子指標であることを提案している。

第三章は、 $\alpha$  Proteobacteria 内の紅色非イオウ光合成細菌と非光合成細菌について供試菌株数を増やし、FPPS 遺伝子部分塩基配列に基づき、 $\alpha$  Proteobacteria の分子系統解析について記述している。FPPS 遺伝子部分塩基配列が、近縁な生物群内の系統関係を表わすのに有用な分子指標であることを示している。16S rDNA の分子系統において、その近縁が示唆されている、光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* と光合成能を有しない根粒形成菌

*Bradyrhizobium japonicum* との間に、*FPPS* 遺伝子の分子系統と唯一矛盾する点を示し、第四章以降、これら二種間を、光合成細菌と非光合成細菌の系統進化を考えるためのモデル系としたことが示めされている。

第四章では、光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* と非光合成の根粒形成菌 *Bradyrhizobium japonicum* の関係について、両者が共通して持つ窒素固定能に着目し、窒素固定に関与する遺伝子を用いた分子系統解析について記述している。窒素固定遺伝子群の中の *nifH* 遺伝子のみが他の *nif* genes とは異なる系統を示していることを指摘し、1つの regulon 内で *nifH* 遺伝子が水平伝播によって置換した可能性を指摘している。

第五章では、全ゲノム解読が進む両者 (*Rhodospseudomonas palustris* と *Bradyrhizobium japonicum*) と光合成細菌である *Rhodobacter sphaeroides* の house keeping 遺伝子をすべて比較し、*Rhodospseudomonas palustris* のゲノム (特に house keeping 遺伝子) が同じ光合成細菌である *Rhodobacter sphaeroides* のゲノムではなく、非光合成細菌の *Bradyrhizobium japonicum* のゲノムに近いことを示し、光合成能がこれら細菌の進化の過程において水平伝播によってもたらされた可能性が高いことを示唆している。

第六章では、総括し、紅色非イオウ光合成細菌と窒素固定細菌との関係について、*FPPS* 遺伝子、カロチノイド遺伝子、窒素固定遺伝子の分子系統をまとめ、さらにこれら遺伝子の分子進化から光合成細菌とそれらに近縁な非光合成細菌の生物進化を推定している。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、微生物分類学において、未だ解決されていない、表現型と分子系統の矛盾を明らかにしようと試みた研究である。特に、光合成細菌が持つ光合成によるエネルギー獲得系の分類学的評価を行うために、間接的手法ではあるが、他の遺伝子による分子系統解析による試みを行い、光合成細菌を中心とした  $\alpha$  *Proteobacteria* の細菌の分子系統分類を行ったものである。

本論文において、新たな知見の一つは、Farnesyl diphosphate synthase (*FPPS*) の遺伝子が分子系統解析の新しい分子指標と成り得るということ提案した点であり、特に近縁な生物間において有用であることを示している。16S rDNA は、現在その分子系統が生物の系統とほぼ同じであると考えられ、広く分子系統解析、並びに分類・同定に用いられている。しかしながら、16S rDNA は全ゲノムの一部に過ぎず、他の遺伝子の分子系統と比較し、16S rDNA に基づく系統解析を評価することも必要であり、本論文は、その点において、新たな別遺伝子による系統解析を試み比較解析した結果、今後の 16S rDNA 系統解析の有用性をさらに支持する結果を示すことができた。

次に、複数の遺伝子：16S rDNA、*FPPS* 遺伝子、窒素固定遺伝子、カロチノイド合成系遺伝子の分子系統を比較解析したことにより、遺伝子の分子系統と生物の系統の相違 (食い違い) を指摘している。さらに、一つの機能遺伝子、ここでは窒素固定遺伝子群において、一つの regulon 内で、*nifH* 遺伝子のみが水平伝播した可能性を強く示唆し、一遺伝子のみによる分子系統解析の危険性を指摘している。また、全ゲノム情報を分子系統解析結果と組み合わせることにより、光合成細菌 *Rhodospseudomonas palustris* の光合成能の分類学的評価ができ、光合成能を有することが、これら近縁の分類群にとってさほど重要な分類上の指標ではないことを示すことができた。複数遺伝子の分子系統を比較することで、より生物の系統を表現できることを示唆しており、今後の分子系統分類の新たな考え方を示すもので、評価に値する。

以上のように、本論文は、光合成細菌の分類体系の構築を行う上で、新しい分子系統指標の提案と、重要な分子系統学的知見を得ることができた。環境保全上、農業上、工業上有用な微生物の一つである光合成細菌の分類体系の再構築に、本研究の成果が有益な情報として用いられると思われる。機能遺伝子の分子進化の情報は、これらを用いたバイオテクノロジー技術の開発に将来寄与することができると思われる。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。