

Title	大腸菌と細胞性粘菌の実験室内共生成立過程における大腸菌の表現型変化と遺伝子発現ネットワークのダイナミクス
Author(s)	木原, 久美子
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49338">https://hdl.handle.net/11094/49338</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。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

自然界には多くの共生関係が存在するが、それらがどのように成立したのかは解明されていない。これに答えるには、現存する共生系の解析だけでは不十分である。なぜなら、現存の共生関係を構成する生物は既にこの状態に適応していると考えられるため、独立生活から共生関係へと変化する初期過程の情報を抽出することは困難だからである。そこで本研究では、先行研究によって構築された細胞性粘菌と大腸菌の実験室内共生系を改変して用い、その過程を実験的に解析するという構成的アプローチによって共生関係が樹立する際の普遍的なプロセスについての知見を得ようと考えた。捕食被食関係にある両者を固体培地上で共培養すると、粘性をもつコロニーが発生し、その内部で両種の個体群が維持された共生関係（共生コロニー）が構築されていく。これまで、この共生系形成の前後で大腸菌の菌体内タンパク質濃度が変化することや、トランスクリプトームが変化することが判明している。しかしながら本共生系の形成過程におけるコロニーの数やサイズといった共生コロニーレベルの変化、大腸菌クローンのコロニー形態や増殖速度等の表現型レベルの変化、大腸菌の遺伝子発現レベルのダイナミクスは明らかではない。本論文では、共生系形成過程におけるこれらの経時変化を明らかにすることを目的とした。

共生コロニーが形成される共培養開始後3週間のコロニーの数やサイズの時系列変化を追うと、一度発生しても途中で消滅する粘性コロニーがあること、消滅の時期は培養開始から10日目までにおこり、10日目を越えて維持されたものは共生コロニーを形成することが明らかとなった。形成された共生コロニーは、発生した粘性コロニーの中でも30%以下であり、大半の粘性コロニーが消滅していた。共生コロニーの形成は、培地成分にあまり依存せず、両菌体の初期植菌量が植菌スポットあたり大腸菌1000万個・細胞性粘菌が1000個以上共に存在するときに形成された。さらに、蛍光タンパクを組込んだ細胞を用いた共培養系の顕微鏡観察により、発生した粘性コロニーおよび共生コロニー内部では依然として両菌体が共生コロニー内で捕食被食関係にあることが明らかとなった。以上のことから、共生コロニーが形成される過程では、共生関係の形成の機会が多くあっても、両者の細胞数条件がそろわないと安定した共生系として成長できないことが明らかとなった。

2種間の捕食被食相互作用は、互いの細胞の性質に影響を及ぼし大腸菌集団に表現型の変化を引き起こすことがわかっているが集団内の個々の細胞ごとの表現型のばらつきについては調べられていない。両者は固体培地上で相互作用しているため、相互作用に局所性があり、この不均一な相互作用が大腸菌の表現型のばらつきを生じさせていると考えられる。固体培地上の大腸菌の表現型変化をクローンに分離し、コロニー形態や増殖速度を調べた。その結果、単独培養時の大腸菌の性質を持つ集団から、細胞性粘菌と共生しやすい性質を持つ大腸菌集団が出現し、その頻度を増加させることがわかった。また、共生しやすい性質は世代をまたいで保持される事も明らかとなった。

共生コロニーが形成される3週間の大腸菌の遺伝子発現の変化を調べるために、トランスクリプトーム解析を行った。共培養後、0、1、3、6、21日目の大腸菌のトランスクリプトームを単独培養の大腸菌と比較すると、全遺伝子の約6%が有意に発現変動していることがわかった。共生系の形成過程の大腸菌は粘性のコロニーを形成する表現型変化を起こすが、ポリサッカライド合成系の遺伝子発現が増加することから、この表現型変化には少なくとも遺伝子発現の変化が関与していることが明らかとなった。また、共培養条件では大腸菌のストレスが軽減していることや、細胞性粘菌との物質交換を示唆する遺伝子発現の変動が明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、大腸菌と細胞性粘菌からなる実験室内共生系を再構成・解析することによって共生成立初期過程の一般的理解を得ようとしたものである。両者が共存する共生コロニーの確率的な出現を記載し、その要因を、培地成分や初期菌体密度の依存性、蛍光タンパク質標識細胞を用いた細胞集団の空間構造の顕微鏡観察から明らかにした。初期細胞濃度が閾値以上で出現する粘性コロニーのうち、細胞密度が疎なものが共生コロニーへと発達する事や、大腸菌の表現型変化が共生コロニーの発達に寄与する事を示した。また、共生初期過程の大腸菌の網羅的な遺伝子発現変化を経時的に調べた。以

## 【93】

氏名	木原久美子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第23088号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	大腸菌と細胞性粘菌の実験室内共生成立過程における大腸菌の表現型変化と遺伝子発現ネットワークのダイナミクス
論文審査委員	(主査) 教授 四方 哲也 (副査) 教授 柳田 敏雄 教授 菊池 誠

上の結果は、自然界の共生系を調べるだけでは理解困難な初期の共生成立過程に関し、生物を用いた実例を示した事で重要な知見を与えた。

研究成果は1報の原著論文に採択され、加えて1報を投稿準備中である。国際学会3件と国内学会14件で発表し、細胞性粘菌学会では優秀賞を受賞した。

以上の研究内容とその成果から、申請者は博士（理学）の学位に値する。