



Title	大腸菌における増殖制御の耐故障性に関する研究
Author(s)	村上, 由衣
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55860
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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

論文内容の要旨

氏名 (村上 由衣)	
論文題名	大腸菌における増殖制御の耐故障性に関する研究
論文内容の要旨	
<p>細胞の増殖は、進化の過程で獲得され、洗練された分子機械によって制御されている。内部の代謝反応とそれらを含む細胞の形成反応が協調して働くために、外部環境の変化に晒されながらも、DNAや細胞容積を一定に維持した再帰的な細胞の複製が可能になっている。一方で、これらの分子機械そのものやその制御を破壊もしくは制限し、細胞の増殖機能の対故障性を調べる試みが近年盛んに行われている。これらの研究は、洗練された分子機械や制御をもたない原始的な細胞の増殖様式の理解や、天然には存在しない機能を持つ細胞の創出を可能とする意義がある。本研究では、大腸菌のヒスチジン生合成あるいは細胞壁合成に関わる制御を破壊した際の増殖能力と遺伝子発現量変化の関連性を探るため、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、ランダムにも見える発現量変化の中には、細胞の資源の浪費を抑える変化と、細胞の修復を促す変化が大部分を占めており、こうした発現量変化によって制御の故障を克服していることが示唆された。また、制御の破壊を受けつつも増殖できる細胞の特殊な性質を活用し、新たな細胞工学的手法の応用例を示した。これらを全5章の博士論文として報告する。</p> <p>第1章では、本研究の背景、および目的について記述する。</p> <p>第2章、第3章においては、増殖に必須である、ヒスチジン生合成および細胞壁合成制御をそれぞれ破壊した細胞の遺伝子発現解析を行った。先行研究では、ゲノム全体における大規模な遺伝子発現量の変化が観察されたものの、それらの発現量変化が増殖に寄与するものであるかが不明であった。そこで、増殖速度や転写ネットワーク、遺伝子産物の局在などを指標に発現量変化を分類することで、方向性をもった変化を捉え、ゲノム全体の発現量変化と耐故障性を初めて関連付けることが可能になった。これらの結果から、故障時にみられる大規模な遺伝子発現量の変化は、その大部分が細胞の生存に対し意味のない変動ではなく、細胞の生存に有利に働きかけていることを示唆している。これら2つは全く異なる経路（アミノ酸生合成・細胞の形態形成）の破壊であるが、2つの発現量変化に共通して、遺伝子発現コストの削減と細胞のメンテナンスに関わる遺伝子群の誘導が確認された。すなわち、制御の破壊に対する耐故障性は、一般的なストレス応答制御に見られるような機能に特化した少数の遺伝子の発現量変化によってもたらされるものではなく、極めて大多数の遺伝子を動員することによってもたらされるものと考えられる。進化の過程で獲得してきた制御機構は、数分単位で特異的な発現量変化を促すのに対し、耐故障応答では他の多くの機能（鞭毛運動など）が犠牲になり、長時間にわたる修復作業に細胞内の資源が割り当てられる点で、こうした大掛かりな発現量変化は、洗練された制御に劣っていると考えられる。しかし一方で、このような応答は、幅広い環境変化に対応しうる可能性を秘めており、いかにして原始的な細胞が経験の浅い過酷な環境下で増殖しえたのかを想起させる応答と考えられる。</p> <p>第4章では、第3章で扱った、細胞壁の合成が阻害されても増殖が可能なL型細胞を用いて、2つ以上の細胞を融合させる電気融合法を開発した。電気融合法は細胞融合法の中でも高効率で、細胞溶液組成を変化させないことから有用な方法と考えられているが、バクテリアにおいては細胞サイズの小ささや細胞壁による剛性の高さから難しいと考えられてきた。しかし、細胞サイズが巨大で、細胞壁がほとんど存在しないL型細胞を用いることで、先行研究における問題点であった操作の簡易化を可能にした。また、L型化は他のバクテリア種でも広く見られる現象であることから、大腸菌だけでなく、その他の種での応用や、異種の細胞同士の電気融合などが可能になることが期待できる。</p> <p>第5章では、本研究の総括を述べる。本研究では、ヒスチジン生合成および細胞壁合成の制御を破壊させた場合に見られる大規模な遺伝子発現量の変化と細胞の増殖能力の関連性を探った。ランダムにも見える発現量変化の中には、限られた細胞の資源の浪費を抑える変化と、細胞の増殖機能の修復を促す変化が大部分を占めていた。さらに、細胞の耐故障性を利用した、新たな細胞工学手法の応用例を示した。細胞の増殖に関わる制御の破壊に対し耐故障性を調べることは、いかにして生物が未経験の環境に遭遇した際にも柔軟に対応して成長や増殖を持続しうるのか、またその結果得られる新奇の表現型を用いた生物の新たな工学利用法などについて、多くの知見を与えてくれる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (村上 由衣)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	清水 浩
	副 査	教授	松田 秀雄
	副 査	教授	前田 太郎
	副 査	教授	若宮 直紀
	副 査	准教授	市橋 伯一
論文審査の結果の要旨			
<p>本論文は大腸菌における増殖制御の耐故障性の研究に関するものである。</p> <p>第1章は序論である。本研究の背景と目的について述べている。</p> <p>第2章、第3章においては、増殖に必須であるヒスチジン生合成および細胞壁合成制御をそれぞれ破壊した細胞の遺伝子発現解析が述べられている。そのなかで、故障時にみられる大規模な遺伝子発現量の変化は、その大部分が細胞の生存に対し意味のない変動ではなく、細胞の生存に有利に働くことが明らかにされている。この結果は、先行研究で不明であった遺伝子の発現量変化と増殖能力の関連性を示すものであり、重要な成果であると認められる。また、遺伝子発現制御の破壊に対する耐故障性は、一般的なストレス応答制御に見られる機能に特化した少数の遺伝子の発現量変化によってもたらされるものではなく、極めて大多数の遺伝子の発現量を変化させることによってもたらされるということも明らかにしている。これは、故障に対する応答が大がかりであり洗練されたものではないことを明らかにした結果であり、これまででない新たな知見であると認められる。</p> <p>第4章では、第3章で扱った細胞壁の合成が阻害されても増殖が可能なL型細胞を用いて、2つ以上の細胞を融合させる電気融合法の開発について述べられている。電気融合法は細胞融合法の中でも高効率で、細胞溶液組成を変化させないことから有用な方法と考えられているが、バクテリアにおいては細胞サイズの小ささや細胞壁による剛性の高さから難しいと考えられてきた。しかし、細胞サイズが巨大で、細胞壁が、ほとんど存在しないL型細胞を用いることで、先行研究における問題点であった操作の簡易化を可能にしている。また、L型化は他のバクテリア種でも広く見られる現象であることから、大腸菌だけでなく、その他の種での応用や、異種の細胞同士の電気融合などが可能になることが期待されるため、重要な成果だと認められる。</p> <p>本論文で明らかにされた大腸菌の耐故障性の研究は、生物が未経験の環境に遭遇した際に柔軟に対応して成長や増殖を持続するしくみの一端を明らかにしたものであり、生物の情報処理機構の解明にとって重要な研究成果であると考えられる。またL型細胞については、細胞の耐故障性を利用した新たな細胞工学手法の応用例が示されており、工学的にも価値のある知見が提供されている。したがって本論文は博士（情報科学）の学位論文として価値のあるものと認める。</p>			