



Title	大腸菌の長期飢餓条件での生存メカニズムに関する研究
Author(s)	高野, 壮太郎
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67046
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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 （ 高野 壮太朗 ）	
論文題名	大腸菌の長期飢餓条件での生存メカニズムに関する研究
論文内容の要旨	
生物は環境変動や個体数増加によって栄養欠乏環境に曝され，こうしたストレスに耐え得る戦略は生存・繁殖に不可欠である．多くの生物では，長期間飢餓で生存することは難しいものの，興味深いことに，一部のバクテリアでは，外部からの栄養供給停止後も集団内の一部の個体は数年間生き残ることが知られている．先行研究から，長期飢餓でこのような個体の生存には，死細胞由来の栄養を使って増殖（リサイクル），死滅を繰り返すことが重要であると考えられている．しかし，従来の研究では細胞がリサイクル活動によってどのように増殖と死滅のバランスを保ち安定して生存しているかは定量的に検証されておらず，また，長期飢餓で安定して生存している細胞の生理状態についても分子レベルの知見は皆無であった．本研究では，細胞の増殖・死滅ダイナミクスと，長期飢餓で生存する細胞の生理状態の2つに着目し解析を行うことで，長期飢餓での細胞生存メカニズムに迫った．第二章では，長期飢餓環境での個体群動態を観察し，細胞の増殖と死滅がどのように制御され，安定的な生存が実現されるかを検証した．その結果，細胞の飢餓時の増殖・生存には細胞から培地中に漏出する栄養が重要であること，さらに，長期飢餓の環境中ではバクテリアは増殖に十分な栄養が環境中にあるにも関わらず，増殖，死滅速度を非常に小さく保つことで安定して個体数を維持していることが初めて明らかになった．この挙動の実現には細胞濃度依存的な増殖・死滅速度変化が必要であることが新たに明らかになり，数値シミュレーションを用いた解析からこうした細胞濃度に応じた増殖変化が飢餓時に生存する細胞数を高められることも示唆され，長期飢餓での生存能力向上を実現する戦略を新たに提示することにも成功した．続いて，第三章では，細胞内部の遺伝子発現プロファイルを解析し，長期飢餓で生存する細胞の生理状態を分子レベルで解明することを目指した．第二章から，細胞由来の栄養の有無や，生細胞濃度の違いが長期飢餓での生存に影響を与えることが示唆されていたが，DNAマイクロアレイを用いた解析の結果，こうした条件の違いが細胞の生理状態に与える影響を遺伝子発現のレベルで明らかにすることが出来た．長期飢餓環境では，細胞由来の栄養が皆無な環境に比べ，物質取り込みに関わる遺伝子発現を活発にし，外部からの栄養取り込みを活性化させていることが示唆された，一方で，栄養豊富な増殖期終了直後に比べると，ストレス応答性遺伝子の発現を活性化させ，逆にタンパク質合成に関わる遺伝子の発現を抑制させていることが明らかになり，低い増殖・死滅速度の実現に重要となる機能が遺伝子発現レベルで裏付けられた．さらに，細胞濃度の上昇によって物質輸送に関連する遺伝子発現が活発になる代わりに，タンパク質産生に関わる遺伝子発現が抑制されていることも明らかになり，細胞濃度依存的な増殖・死滅速度変化に重要となる遺伝子カテゴリーが推定された．本研究の解析から，長期飢餓時の生存能力向上に必要な増殖制御が新たに明らかになったと共に，今まで未解明であった長期飢餓環境で生存する細胞の生理状態を遺伝子発現レベルで特徴付けることが出来た．本研究で抽出された長期飢餓での生存や細胞濃度依存的な生理状態変化に関わると予想される遺伝子群についてより詳細な解析を行うことで，長期飢餓で生存能力を高める細胞の創出・個体間相互作用のデザインにつながると期待される．	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (高野 壮太郎)			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教授	清水 浩
	副 査	教授	松田 秀雄
	副 査	教授	若宮 直紀
	副 査	教授	前田 太郎
	副 査	准教授	市橋 伯一

論文審査の結果の要旨

本論文は大腸菌の長期飢餓条件での生存メカニズムを研究したものである。

第1章は序論であり、研究の背景と本研究の目的について述べられている。本論文の目的は、栄養欠乏下で大腸菌が、どのようにして長期間生存できているのか、そのメカニズムを明らかにすることである。

第2章では、大腸菌の長期生存のメカニズムとして「死細胞から栄養をリサイクルすることで大腸菌が長期生存している」とする仮説をたて、その検証を行っている。様々な条件で生細胞数、および死細胞を含めた全細胞数のダイナミクスを測定することにより、長期生存状態の生細胞数が初期細胞濃度と正に相関すること、長期生存細胞には遺伝的な変化は生じていないこと、長期生存細胞の増殖は栄養濃度ではなく細胞濃度に依存して停止していることを明らかにしている。さらに上記仮説に基づいた数理モデルを構築し、その振る舞いをシミュレートした結果、一定の生細胞を維持した長期生存が可能であるという実験結果と一致した知見を得ている。これらの結果は、死細胞から栄養をリサイクルすることで大腸菌が長期生存しているという上記の仮説を支持している。

第3章では長期生存細胞内の状態がどのように変化し、長期生存を可能にしているのかを調べている。DNAマイクロアレイを用いて細胞内の遺伝子発現プロファイルを解析した結果、長期生存細胞は通常の増殖終了期に比べてトランスポーターなどの外部からの栄養の取り込みに関わる遺伝子の発現が維持されているのに対し、翻訳や脂質合成、細胞分裂など細胞増殖にかかわる遺伝子群の発現が抑えられていることが明らかになっている。また定常期と比べると、外部からの栄養素の輸送に関わる遺伝子群の発現が上昇していることが見出されている。これらの結果により、長期生存状態の細胞が増殖を抑制し栄養の取り込みを促進するような遺伝子発現パターンに変化していることが示され、長期生存細胞が生存しているメカニズムの一端が明らかにされている。

第4章で得られた結果を総括し、研究の展望を述べている。

このように、本論文では細胞の個体数ダイナミクス解析（第2章）と細胞内の遺伝子発現パターン解析（第3章）という2つのアプローチで大腸菌が飢餓状態で長期生存するメカニズムを明らかにしている。本結果は、いままで不明であった大腸菌の長期生存のしくみの一端を明らかにしたという点で価値がある。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。