



Title	Evolutionary improvement of carrying capacity in bacteria
Author(s)	小森, 隆弘
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72598
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

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 (小森 隆弘)	
論文題名	Evolutionary improvement of carrying capacity in bacteria (進化による細菌の環境収容力向上戦略の解明)

論文内容の要旨

Evolution, which is a change in a trait of a living organism over numerous generations, is a very important phenomenon. Living organisms possess numerous very complex networks and can maintain networks suitable for their habitat through evolution. To explore the complex process of evolution, experiments that demonstrate evolution in the laboratory are very useful because they provide a controllable environment and evolution can be directly observed.

What factors are important in evolution? All organisms grow and propagate by using limited nutrient resources. Therefore, resource utilization is one of the most important factors in evolution. Two main evolutionary strategies are used to improve resource usage during growth: the K-strategy, in which organisms increase the carrying capacity, the biomass that an organism can reach in a specific environment, and the r-strategy, in which organisms increase their growth rates, increasing the rate of biomass during the log phase.

Maximizing the increase in biomass, which is determined by multiplying the cell number by the cell weight, is advantageous for an organism, including by improving species survival and increasing its evolution rate. Despite the importance of K-strategy evolution, this strategy is not well-understood because of the lack of suitable analysis methods. Studies are needed to evaluate K-strategy evolution under various environmental conditions to determine the mechanism of this process.

Here, I examined whether the K-strategy can be achieved under broader nutrient conditions than previously observed.

In chapter 2, I explore the effect of compartmentalization for selection in K-strategy evolution. This analysis was conducted under histidine-limited conditions, which were previously studied only in a very complex environment, demonstrating that *Escherichia coli* mutants with a higher carrying capacity (i.e., K-strategy) are observed only in environments with compartmentalization. Whole genome sequencing of the K-adapted strains revealed functional variations in the mutated genes during the fitness-increasing period.

In chapter 3, I examined K-strategy evolution under nitrogen-limited conditions, in which the mutations were expected to have a smaller effect on the increase in carrying capacity than amino acid limitation because of the broad range of limited pathways. I demonstrated that K-strategy evolution can occur under nitrogen limitation in the proposed system and identified gene sets that may increase the bacterial carrying capacity under these conditions.

Finally, in chapter 4, I summarize the results obtained in this study and discuss the future prospects and applications. These results provide insight into the evolvability of organisms, including the relationship between evolutionary consequences and the environment or alterations in an intracellular chemical process. In terms of industrial application, this information can be used to predict the behavior of a metabolically engineered organism and develop a general tool for constructing organisms useful for various purposes including chemical production and the remediation of harmful chemicals.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (小森 隆弘)		
論文審査担当者	(職)	氏名
	主査 教授	松田 史生
	副査 教授	前田 太郎
	副査 教授	清水 浩
	副査 教授	若宮 直紀
	副査 教授	松田 秀雄

論文審査の結果の要旨

本論文は進化による細菌の環境収容力向上戦略を研究したものである。環境収容力を向上させる進化戦略が理論的に指摘されており、これをK戦略と呼ぶ。本論文はK戦略を実験的に実証することを志向している。その実現に向け、細胞の継代培養において植え継がれる細胞数を平均1細胞とすることで、増殖速度の差による選択への影響を小さくした実験系を構築し、K戦略を実証することを目的としている。

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。

第2章では増殖にアミノ酸の添加を必要とする大腸菌を用い、アミノ酸濃度の低い環境にて増殖と選抜を繰り返す進化実験を行っている。また、多数の小区画に分かれた培養器に分注して培養することで、各区画に入る菌の濃度（ボトルネックの大きさ）を制御できるようにした。結果、増殖飽和時の濁度はボトルネックの小さな進化実験条件で増加する系列が見られたがボトルネックの大きな条件では増加が見られないことを明らかにしている。また、ゲノムシーケンスの結果、濁度の増加した系列で継代進化実験中に複数の突然変異が集団中に固定されたことを示している。これにより、アミノ酸の制限下においてK戦略進化が起こりうることを実験的に示している。

第3章では、この系の一般性を確かめるため、資源制限をアミノ酸ではなく窒素とした環境でボトルネックの小さな条件で進化実験を行っている。その結果、窒素制限環境においても飽和時の濁度の増加が確認できたことを示している。これにより、制限される資源がアミノ酸でなくともK戦略進化の実証が可能であること、本研究で提案した手法は広範な環境条件におけるK戦略進化の実証に適応できることを示している。

第4章では、本研究で得られた知見をまとめ、展望について述べている。

このように、本論文では増殖速度の差による選択への影響を小さくした実験系を構築することに初めて成功し（第2章）これを用いてアミノ酸濃度（第2章）と窒素源（第3章）という2つの観点から、K戦略進化が起こりうることを実験的に示している。本研究は、K戦略進化の実験系を構築し、生体内ネットワークの進化理論に対して、進化の過程の解明などさまざまな実験的検証を可能とした点で、情報科学の発展に寄与することが期待される。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。