

H 16 年 | 月 16 日

環境・生命工学専攻	学籍番号	019404
申請者氏名	富田悟志	

指導教官氏名	菊池 洋
	平石 明
	田中 照通

論文要旨 (博士)

論文題目	枯草菌ゲノムの可塑性：ゲノム構造変化に伴う表現型変化の研究
------	-------------------------------

ゲノムは生命の設計図であり、安定して子孫に引き継がれるが、その複製の過程において点突然変異や重複、逆位などの変化を受ける。こうした変化は分子進化の原動力となっており、生物のゲノムを解析することでその全体像の理解が期待されている。近年、モデル生物のゲノムプロジェクトが終了し、全ゲノム塩基配列が明らかとなった。バクテリアではモデル生物の大腸菌や枯草菌だけでなく、100種を超える菌において全ゲノム配列が明らかにされ、ゲノムレベルでの比較が可能となっている。比較ゲノムの手法は、バクテリアの遺伝子資源の多様性と共に、バクテリアに共通する遺伝子群やゲノム構造の存在を明らかにし、生物界における水平伝播の普遍性やゲノム構造を保持する未知の機構だけでなく、それらを受け入れるバクテリアゲノムの可塑性を強く示唆している。

本研究では、バクテリアゲノムの可塑性を実証するために、枯草菌を用いて2つの実験系を構築した。第二章では、東海大学海洋学部の田中博士が作製した染色体バランスを著しく崩した株から分離された、生育が回復した株 (*das-1* 変異株) のゲノム構造を詳細に解析した。詳細な解析の結果、*das-1* 変異株では複製開始点を含む 270-kb にも及ぶ DNA が別の領域に転位しており染色体バランスが回復していることを明らかにした。結果と他のバクテリアの研究から、今回の転位は、これまで報告されているゲノムの再編成の機構とは異なる、非相同組み換え機構で起こった可能性を示した。

第三章では、枯草菌で確立された Recombinational Transfer (BReT) 機構を用いて、指定したゲノム領域をプラスミド中に正確にコピーする試みを行った。コピーする領域は、機能遺伝子の単位 (オペロン)、外来 DNA と考えられる領域を含む配列、長大な溶原性ファージ領域 (SP β)、必須遺伝子を含む配列、を選択した。選択した DNA 配列は第二章で解析した *das* 変異株の転位領域の一部を含んでいる。SP β を除いて、最高 100-kb に及ぶゲノム領域を正確にプラスミドにコピーできることを明らかにした。

得られた成果は、枯草菌の生育にはゲノムの複製開始点と終結点のバランスが重要なだけでなく、複製と転写の方向の逆転や、ゲノム中での複製開始点と終結点とその周辺の遺伝子の機能と密接に関わっていることを強く示唆するものであった。ゲノム領域のプラスミドへの移行では、4,215 kb の枯草菌ゲノムの 2.4% の領域が重複した状態で枯草菌が生育することが示された。枯草菌ゲノム領域のプラスミドへの移行は、ゲノム DNA の水平伝播モデル系の第一ステップの基礎を築くと共に、全ゲノム DNA ライブラリの構築とゲノム構造探索プローブとしての可能性も示せた。また形質転換に関わる *comS* 領域の重複が形質転換能の向上につながるという知見が得られた。

ゲノム構造変化と生育の回復や、*comS* を含む領域の重複による形質転換能の向上は、ゲノム構造の変化に連動する表現型の変化の一例であり、ゲノムを改変することによる多様な表現型を創成するゲノム育種法の可能性を示すことができたと考えられる。