

氏名	まつい かず あき 松井 一 彰
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2513号
学位授与の日付	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻(動物学系)
学位論文題目	Involvement of biological factors in the horizontal gene transfer among bacteria by natural transformation in aquatic environments (自然形質転換によるバクテリアの遺伝子水平伝播に関わる水環境中における生物学的要因)
論文調査委員	(主査) 教授 川端善一郎 教授 今福道夫 教授 清水 勇

論文内容の要旨

水環境中における、自然形質転換を通じたバクテリアの遺伝子水平伝播の可能性を検討するため、バクテリアの自然形質転換が成立するために必要な(1)形質転換能を持つDNAを供給する細菌の生残、(2)遺伝子供与細菌からの細胞外へのDNAの放出、(3)放出された細胞外DNAの形質転換能を保持した形での生残、(4)放出された細胞外DNAのバクテリアによる組み込み、の4つの項目について、生物学的要因が及ぼす影響について、実験生態系を用いて検討を行った。

(1)形質転換能をもつプラスミドDNAを導入した遺伝子組み換え大腸菌は、親株細菌のみがいる系では生残出来なかったが、異なった生態系機能群である捕食者(原生動物)、生産者(藻類)が親株細菌と共に生態系の構成種になっている場合、生物間相互作用を通じて生残しうる事を明らかにした。この結果から、組み換え細菌の親株細菌が生態系の構成種の場合、遺伝子組み換え細菌も野外水環境中にて生残し、細胞外DNAの供給者となりうる可能性が示唆された。

(2)遺伝子組み換え大腸菌と藻類の代表種として用いた *Euglena gracilis* との混合培養実験において、組み換え大腸菌からの形質転換可能な形での細胞外へのDNAの放出を確認した。この結果より、バクテリアによる細胞外DNAの放出が、藻類によって促進される可能性が示された。

(3)放出された細胞外DNAは形質転換能を保持したまま、自然湖水にて一週間以上の最期にわたって生残する可能性を、湖水を用いた室内実験から明らかにした。また野外の生物群集が細胞外DNAの分解に関わっていることが、生物を取り除いた湖水での実験から明らかになった。

(4)自然形質転換能をもつバクテリアとして枯草菌を用いた実験から、捕食者である原生動物(*Tetrahymena thermophila*)が捕食による直接的な相互作用だけでなく、代謝産物を通じた間接的な相互作用を通じて、自然形質転換を抑制する事を示した。また藻類(*Euglena gracilis*)の代謝産物が、原生動物の代謝産物による自然形質転換の抑制効果を緩和することについても明らかにした。

以上の結果から、水環境中におけるバクテリアの自然形質転換を通じた遺伝子の水平伝播頻度は、捕食者や藻類との相互作用によって大きく影響を受けうる事が、本研究を通して示された。

論文審査の結果の要旨

バクテリアが環境の変化に適応すべく、新たな表現型を獲得する重要な方法として、遺伝子の水平伝播現象が挙げられる。遺伝子の水平伝播現象は、突然変異と同じく種の多様性を推進する機構として重要であるとともに、抗生物質耐性能の蔓延にみられるような、人為活動に好ましくない遺伝表現型の定着にも関与しており、生態学の分野のみならず、生物学の多岐の分野において興味深い現象である。実際の自然生態系における遺伝子の水平伝播は、そこに生息する生物による影響が、その成否に大きく関与していると考えられるが、これまでこのような視点からの研究は、技術的な難しさなど様々な制約から行われてこなかった。

申請者は、このような困難を克服すべく、バクテリアの自然形質転換が成立するために必要な項目として(1)形質転換能を持つ DNA を供給する細菌の生残、(2)遺伝子供与細菌からの細胞外への DNA の放出、(3)放出された細胞外 DNA の形質転換能を保持した形での生残、(4)放出された細胞外 DNA のバクテリアによる組み込み、の 4 点を特に抽出し、それぞれに対して生物学的要因が及ぼす影響について、実験生態系を用いて検討を行った。その結果(1)については原生動物および藻類との相互作用を通じて DNA を供給する細菌の生残が可能になることを示し、(2)については、これまで全く注目されていなかった藻類との相互作用が、遺伝子供与細菌からの細胞外への DNA の放出を促進する効果を持つ事を初めて示した。また(3)については今まで有機栄養塩としてのみ着目されていた水環境中に存在する溶存態 DNA が、世界で初めて、遺伝情報源としても利用される可能性があることを湖の深層水を用いた実験から示した。さらに、(4)放出された細胞外 DNA のバクテリアによる組み込みに対して、原生動物が捕食のみならずその代謝産物を通じて抑制効果を持つことを初めて明らかにした。

本研究は上述した一連の実験生態系を用いた結果を基に、水環境中におけるバクテリアの遺伝子の水平伝播頻度が、生態学的に異なった機能群に属する捕食者や藻類との相互作用によって大きく影響を受けうる事を、具体的なデータによって示唆した初めての例である。これまでエネルギーあるいは栄養塩の流れから説明されていた生態系という概念に対して、遺伝情報の流れという新たな視点からの生態系の研究は、非常に高く評価されるものである。よって本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値があるものと判断した。なお、平成14年1月22日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。