

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	島崎 智久
論文題目	タバコ特化代謝産物を介した植物細菌叢相互作用に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>植物の根には、多種多様な根圏細菌からなる植物根細菌叢が形成される。根細菌叢は、植物の生育促進や生物学的および非生物学的ストレスの緩和など、宿主植物の健全な生育において重要な役割を担う。植物根細菌叢を形成する細菌種の構成は、上位分類ではどの植物種においても高く保存されている一方、下位分類では植物種ごとに異なることから、個々の植物種が進化の過程で自身の生育に適した根細菌叢を形成してきたと考えられる。近年、特定の植物種が生産する代謝物（植物特化代謝産物；代謝物）が、根細菌叢の形成に影響することが明らかになりつつあるが、これら特化代謝産物に対する細菌の応答や、植物種と根細菌叢との相互作用に関与する細菌遺伝子に関しては依然多くが未解明である。さらに、単一植物種において生産される複数の特化代謝産物が、その種特異的な根細菌叢の形成にどのように関与するかについても明らかではない。本研究では、ナス科植物のタバコ (<i>Nicotiana tabacum</i>) が生産する2つの特化代謝産物 (サントパインおよびニコチン) に着目し、これら代謝物を介したタバコと根細菌叢との相互作用を明らかにすることを目的とした。</p>			
<p>1. サントパインおよびニコチンによりタバコ根圏に誘引される細菌種を明らかにするため、これらの化合物をそれぞれ添加した土壌、および代謝物非添加土壌で生育したタバコの根内生菌の比較細菌叢解析を行った。その結果、全ての処理区に共通して増加する唯一の細菌属として、放線菌目に属する <i>Arthrobacter</i> 属細菌を見出した。そこで、タバコ根およびサントパインまたはニコチンを添加した土壌から <i>Arthrobacter</i> 属細菌を単離し、16S rRNA 遺伝子による系統解析を行ったところ、これら化合物を添加した土壌には多系統の <i>Arthrobacter</i> 属細菌が生息する一方、タバコ根においては単一系統の <i>Arthrobacter</i> 属細菌が独占的に生息することを明らかにした。このことから、タバコ根に特徴的な <i>Arthrobacter</i> 属細菌は単一の植物特化代謝産物ではなく、植物因子の関与も含め、より複合的な要因によりタバコ根に定着することが示唆された。</p>			
<p>2. タバコ-<i>Arthrobacter</i> 属細菌相互作用に関与する細菌遺伝子を明らかにするため、タバコ根および代謝物添加土壌より単離した細菌株の中から、系統関係および単離環境を考慮して20菌株を選択し、それらの全ゲノム解析を行った。これらに公共データベースから取得した <i>Arthrobacter</i> 属細菌のゲノム情報を加え、合計99菌株からなる pan-genome を構築して比較ゲノム解析を行ったところ、<i>Arthrobacter</i> 属細菌が3つの亜系統に分化していることが明らかとなった。中でも亜系統AおよびBは、植物内生菌に特徴的な機能遺伝子を多く有していたことから、植物内環境への適</p>			

応が*Arthrobacter*属細菌の系統分化に影響を与えたと推察された。サントパインまたはニコチン分解に関わる遺伝子群の有無を調べたところ、サントパイン分解遺伝子は亜系統Aに属する細菌株において広く保存されていた一方、ニコチン分解遺伝子は、ニコチンまたはその類縁体が存在する環境下から単離された細菌株においてのみ同定された。このことから、ニコチン分解遺伝子はニコチン存在下において水平伝播することが示唆された。また、タバコ根由来の単離菌株は、サントパインおよびニコチンの分解遺伝子をどちらも有したことから、植物環境への適応に関与する遺伝子群に加え、宿主植物が生産する特化代謝産物の*Arthrobacter*属細菌による代謝能が、本属細菌のタバコ根への定着性に寄与することが強く示唆された。

3. *Arthrobacter*属細菌のタバコ根への定着に対するサントパインとニコチンの複合的効果を明らかにするため、両化合物の土壌への共添加実験を行った。細菌叢解析においては、単一化合物の添加と同様に *Arthrobacter*属細菌の増加が認められた。また、単離された*Arthrobacter*属細菌の多くはタバコ根由来の単離菌と系統的に近縁であったことから、両化合物が複合的に作用することで、タバコ根に特異的な*Arthrobacter*属系統がタバコ根に誘引されることが示唆された。各単離菌株のサントパインおよびニコチンの分解能を調べたところ、全ての菌株において両化合物の分解遺伝子の存在と分解活性が一致した。また、亜系統Aに属する細菌株に広く保存されているサントパイン分解遺伝子に対し、タバコ根への定着に直接的に寄与すると考えられるニコチン分解遺伝子の欠損変異株を作出した。欠損変異株を用いた競合試験では、野生菌株と比較して変異株においてタバコ根への定着性が有意に低下した。以上のことから、*Arthrobacter*属細菌におけるサントパインやニコチンといったタバコ特化代謝産物の代謝能が、本属細菌のタバコ根への定着性に関与することが示された。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

植物の根細菌叢形成において、植物特化代謝産物は重要な役割を担うが、特化代謝産物を介した植物と根細菌叢間の相互作用に関与する細菌遺伝子の機能や、単一植物種が生産する複数の特化代謝産物が根細菌叢形成に及ぼす複合的な影響は、これまで不明であった。本論文は、タバコが生産する生物活性や生合成経路が異なる2つの特化代謝産物(サントパインおよびニコチン)に着目し、これらのタバコ特化代謝産物により影響を受ける細菌種としての*Arthrobacter*属細菌の同定、比較ゲノムによる*Arthrobacter*属細菌の特性解析に加え、生化学的な相互作用解析を行った一連の研究成果をまとめたものである。本論文の評価すべき点は以下の通りである。

1. タバコの特化代謝産物であるサントパインおよびニコチンをそれぞれ土壌に添加することにより、タバコ根に多く生息する*Arthrobacter*属細菌が土壌中で増加することを明らかにした。
2. サントパイン、ニコチン添加土壌ならびにタバコ根から単離した*Arthrobacter*属細菌20株の全ゲノム配列を決定した。また、比較ゲノム解析により*Arthrobacter*属細菌の植物環境への適応進化機構の一端を明らかにするとともに、特化代謝産物の代謝能が*Arthrobacter*属細菌のタバコ特異的な定着に寄与することを示した。
3. サントパインおよびニコチンの共添加試験により、両化合物が複合的に影響することでタバコ根特異的な*Arthrobacter*属系統が誘引される可能性を示した。これらタバコ特化代謝物の分解試験、ニコチン分解遺伝子を欠損させた細菌変異株を用いた定着競合試験により、タバコ特化代謝産物の代謝能が*Arthrobacter*属細菌のタバコ根への定着性に関与することを生化学的に明らかにした。

以上のように本論文は、情報科学および生化学的解析を通して、タバコの特化代謝産物であるサントパインとニコチンが、根圏土壌中の*Arthrobacter*属細菌を増加させること、これら特化代謝産物の代謝能が*Arthrobacter*属細菌のタバコ根への定着に寄与することを明らかにし、タバコ特異的な根細菌叢が形成される過程の一端を適応進化の観点から明らかにしたものである。本論文の成果は、植物代謝生化学、微生物生態学、および植物微生物相互作用研究の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和3年8月4日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)