

プロファージ遺伝子を介した膜小胞形成による微生物間コミュニケーションの制御

生命環境科学研究科 生物機能科学専攻

氏名：安田まり奈

学位論文の要約版

多くの細菌はシグナル物質を細胞間で受け渡すことでコミュニケーションを行っている。このコミュニケーション機構は Quorum Sensing (QS) と呼ばれ、抗生物質生産やバイオフィーム形成といった細菌の重要な形質を調整することが報告されており、我々ヒトの生活に密接な関わりを持っている。そのため、QS 機構の理解と制御が求められている。QS 機構における重要なプロセスは、細胞間のシグナル物質の放出・伝達である。先行研究によって、土壌細菌 *Paracoccus denitrificans* は、QS シグナル物質である *N*-hexadecanoyl-L-homoserine lactone (C16-HSL) を膜小胞 (Membrane vesicle, 以下 MV) に濃縮させて細胞間で受け渡すことが明らかとなった。高い疎水性を示す C16-HSL 単独では、環境中で細胞間を拡散することは難しいが、MV に包括されることでその拡散性が向上することが考えられる。つまり、*P. denitrificans* は MV を介した QS 機構を有することを示しており、シグナル物質の放出・伝達には MV 形成が重要な役割を果たすと言える。本論文では、*P. denitrificans* における MV 産生機構を詳細に解明することを目的とした。

第 1 章の末では、著者がこれまでの研究で明らかにした内容をまとめている。これまでの研究によって、*P. denitrificans* において DNA ストレスによって誘導される細胞溶菌を介して MV が形成されることを明らかとし、この機構を制御するプロファージ遺伝子 Pden_0381 (*lys*)・Pden_0382 (*hol*) を同定した。さらに、この条件下で C16-HSL が上清中に多量に放出されることが C16-HSL レポーター株のバイオアッセイを用いた実験で示した。

第 2 章では、著者がこれまでに行った研究を発展させた。著者の先行研究では、DNA ストレス条件下で誘導される MV 産生を制御する遺伝子の同定を行った。そこで新たに、トランスクリプトーム解析を行い、DNA ストレス条件下において MV 産生に関わる *lys*・*hol* を含むプロファージ領域の遺伝子発現が上昇することを明らかとした。さらに、SOS 応答を制御する *recA* の破壊株では、DNA ストレスに応じたプロファージ遺伝子群の発現上昇が確認できなかったことから、*lys*・*hol* を含むプロファージ遺伝子の発現は RecA によって制御されることを明らかとした。また、著者の先行研究では、DNA ストレス条件下で C16-HSL が上清中に多量に放出されることを C16-HSL レポーター株のバイオアッセイ実験で示している。そこで本論文では、HPLC-MS を用いた C16-HSL の定量実験を行い、上清中に放出される C16-HSL が MV 画分に局在することを新たに明らかとした。

第 3 章では、C16-HSL を内包する MV をシグナル伝達の蛍光レポーター株に添加し、スピニングディスク顕微鏡を用いて C16-HSL シグナリングを可視化する系を構築した。

第 4 章では、*Escherichia coli* において溶原ファージだけでなく溶菌ファージも MV 産生を誘導することを明らかとした。溶菌ファージが、*E. coli* と同様に *P. denitrificans* の MV 産生を促進させるかは研究の余地があるが、*P. denitrificans* においても溶菌ファージは細胞溶菌を介して MV 産生を促進すると推察している。

以上、著者は *P. denitrificans* がプロファージ遺伝子を介して MV とともに C16-HSL を放出することを明らかとし、プロファージ遺伝子が細菌集団の QS を制御するという、新たなコミュニケーション制御様式を示唆した。