

氏名(本籍)	田代陽介(千葉県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第5018号		
学位授与年月日	平成21年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	細菌における細胞外ベシクルの性質及び形成機構に関する研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	内山裕夫
副査	筑波大学准教授	博士(工学)	野村暢彦
副査	筑波大学教授	工学博士	王碧昭
副査	筑波大学准教授	博士(工学)	市川創作

### 論文の内容の要旨

多くの細菌は環境中で微生物複合体であるバイオフィルムを形成して生息し、バイオフィルムは菌体とそれらが生産される細胞外マトリクスで構成される。微生物を集団として理解するためには、細菌のみならずその周囲に存在するマトリクスを考慮する事が重要となる。細胞外マトリクスの一つとして、グラム陰性菌から細胞外に遊離される Membrane vesicles (MVs) がある。MVs は、病原細菌の感染機構及び環境中での微生物の挙動に関与していると考えられているが未だ未解明の部分が多い。本研究では、日和見感染菌で環境常在菌である *Pseudomonas aeruginosa* をモデル微生物として用い、その性質及び生産機構の解明を行った。

まず、全てのグラム陰性菌に存在し生育必須な外膜タンパク Omp85 ファミリーの *P. aeruginosa* におけるホモログ Opr86 について、機能解析及び抗原としての有用性を検討した。その結果、Opr86 は生育に必須な外膜貫通型タンパクで、外膜タンパクの集合に関与している事が示唆された。また、Opr86 はバイオフィルムを制御する抗原として有用であることが示された。さらに、MVs の物理的性質を検討した結果、増殖段階によって異なる MV 生産機構が存在する事が示唆された。また、Opr86 欠損株では MV の過剰生産が観察された為、Opr86 が MV 生産に影響するメカニズムを解析した。その結果、Opr86 は MV 生産を抑制する因子であることが示唆された。次いで、*P. aeruginosa* PAO1 の増殖段階によって生成される MVs の物理的性質が異なる事から、増殖段階によって異なる MV 生産機構が存在する事を明らかにした。また、PQS が異種細菌の MV 生産に与える影響を検討し、*Escherichia coli* や *Burkholderia* spp., *Pseudomonas* spp. のみならずグラム陽性菌の *Bacillus subtilis* でも MV 生産誘発が見られ、グラム陽性菌における初めての MV 生産の報告となった。

以上により、これまでに知られていなかった Membrane vesicles の機能、生産過程が明らかとなった。

### 審査の結果の要旨

本研究は、細菌が生産する MVs の性質及び生産に関わる因子を解析する事により、MVs の機能及び生産機構の解明を目的として行われた。その結果、以下の重要な科学的知見が得られた。① *P. aeruginosa* にお

ける機能未知の外膜タンパク Opr86 は外膜タンパクの集合・挿入に関わる生育に必須な膜貫通型タンパクであり、MV 生産を抑制する因子であることが示唆された。②増殖段階の移行に伴い MV の膜電位等の性質が変化し、MV が増殖段階で異なるプロセスで生成される事が示唆された。③ *P. aeruginosa* の MV 生産に関与する PQS が異種のグラム陰性菌のみならずグラム陽性菌の MV 生産制御も行う事が示された。グラム陽性菌の MV 生産はこれまでに報告はなく、応用面における MV 利用の新たな可能性を広げた。④対数増殖期では外膜の高速な膨れ上りにより MV が遊離され、定常期では PQS 生産により MV 生産が増大する MV 生産モデルを提唱した。

以上の MVs に関する解析は、微生物の生理現象及び環境動態の理解へと繋がり、環境微生物の基礎を築く知見となることが予想される。今後は更なる MVs の性質・機能が解明され、産業面で応用が期待され、高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。