

氏名	GHALI INES		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 7798 号		
学位授与年月日	平成 28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	Adaptation Mechanisms of Rumen Bacteria to Niches in the Rumen (ルーメン細菌のルーメン内ニッチへの適応機構)		
主査	筑波大学教授 (連係大学院)	博士 (獣医学)	三森 眞琴
副査	筑波大学教授 (連係大学院)	博士 (農学)	櫛引 史郎
副査	筑波大学教授 (連係大学院)	博士 (畜産学)	田島 清
副査	筑波大学教授	Ph.D. (家畜生理学)	田島 淳史

論 文 の 要 旨

ルーメン発酵では細菌、プロトゾア、古細菌、真菌などの多様な微生物で構成されるルーメン微生物叢が飼料を発酵産物へと変換するが、細菌は最も重要な働きをしていることが知られており、反芻家畜の飼料効率を改善することを目的とし、ルーメン細菌叢の微生物学的研究が進められてきた。ルーメン細菌叢は多種多様な細菌により構成されているが、個々の細菌はそれぞれの生活の場としての生態的地位(ニッチ)を有している。しかし、細菌のニッチへの定着およびルーメン細菌叢の形成要因については不明な点が多い。近年、細菌間の競合・協調に働いていると推定される情報交換システムのひとつとして、細胞密度依存的遺伝子発現制御系(クオラムセンシング(QS)システム)が多く細菌種で働いていることが明らかになっている。そこで、ルーメン細菌がQSシステムを利用しているかを確認するため、QSシステム関連遺伝子の検出を試みた。さらに、ルーメン内主要セルロース分解菌である*Fibrobacter succinogenes*のルーメンへの定着機構を検討するために乳糖利用性を検討した。

最初に情報伝達物質としてAutoinducer-2(AI-2)を利用するQSシステムを調べるため、AI-2合成酵素であるLuxSをコードする*luxS*遺伝子の探索をメタゲノムデータセットとメタトランスクリプトームデータセットを用いて行った。その結果、*luxS*遺伝子がメタゲノムデータセットでは*Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Fusobacteria*、*Actinobacteria*から、メタトランスクリプトームデータセットでは*Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Spirochaetes*から検出された。検出された*luxS*遺伝子の推定アミノ酸配列にはLuxSの活性に重要なアミノ酸が保存されていたことからこれらのLuxSタンパク質はルーメン内で機能していると見られた。

次にAutoinducer-1(*N*-acylhomoserine lactones(AHLs))を介したQSシステムをAHLレセプター(LuxR)の遺伝子(*luxR*遺伝子)を標的として調べたところ、メタゲノムデータセットでは*Bacteroidetes*、*Proteobacteria*、*Firmicutes*、*Actinobacteria*などが、メタトランスクリプトームデータセットでは*Bacteroidetes*、*Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes*などが検出された。

以上の結果から、ルーメン細菌叢でAI-2およびAHLsを介するQSシステムが存在し、それらはセルロース分解菌やセルロース分解菌に関連する細菌からも見つかったことから、飼料片上でのバイオフィーム形成に関与していると推察された。

さらに、*F. succinogenes*のルーメン内定着機構を調べるため、乳糖利用性をセロビオース存在下または乳糖のみの条件で検討した。その結果、該菌の増殖は乳糖のみの場合でも認められたが、低濃度(0.01%)のセロビオース添加によってもその増殖が著しく促進され、セロビオース濃度が高まるにつれ誘導期が短縮された。このことから、該菌は哺乳中の子牛のルーメン内でも乳糖のみを炭素源として増殖が可能であり、離乳までの期間に乳糖および繊維分解で得られるセロビオースを利用することで

ーメン内に定着すると推定された。

審 査 の 要 旨

ルーメン細菌叢の成立には、ルーメン細菌が各々の生理的特徴に適したニッチで増殖し、細菌間で互いに協調・競合する関係を構築する必要がある。したがって、個々のルーメン細菌のニッチへの適応は反芻家畜の生産性を維持する上で極めて重要である。しかし、ルーメン細菌のニッチへの適応機構については不明な点が多い。本研究ではルーメン細菌のニッチへの適応機構をQSシステムの存在で調べるとともに、哺乳期におけるルーメン細菌叢の成立過程をセルロース分解菌の乳糖利用性から検討した。AI-2およびAHLsを情報伝達物質とするQSシステムを探索したところ、これらのQSシステムが多くの細菌種で存在することを明らかにした。それらの細菌種にはセルロース分解菌やセルロース分解菌に関連する細菌が含まれており、QSシステムが飼料片上でのバイオフィーム形成に関与していることが示唆された。加えて、セルロース分解菌*F. succinogenes*が乳糖のみで増殖できることを証明し、さらにセロビオース添加で誘導期が短縮されることを示し、該菌のルーメンへの定着のための基礎的要因を明らかにした。

ルーメン細菌叢が正常に成立し、維持されることは反芻家畜の生産において重要であるが、これについての研究は少ない。本研究ではルーメン細菌叢でQSシステムが多くの菌種で機能していることを明らかにするとともに、飼料片上でのバイオフィーム形成にも関与していることを示唆した。また、ルーメン細菌叢へのセルロース分解菌の定着には乳糖利用性が重要であることを示した。これまで不明であったルーメン細菌のニッチへの適応機構の一端を明らかにしたことは高く評価でき、これらの成果は反芻家畜の生産性を向上させる技術開発に多大な貢献が期待される。

平成28年1月20日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。