

氏名	杨 佳约		
学位の種類	博 士 ( 農 学 )		
学位記番号	博 甲 第 8155 号		
学位授与年月日	平成 29年 3月 24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	Mucoid Variants Alter the Intercellular Interaction of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (緑膿菌においてムコイド型変異がもたらす細胞間相互作用の変化)		
主査	筑波大学教授	博士 (工学)	野村 暢彦
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	高谷 直樹
副査	筑波大学准教授	博士 (工学)	橋本 義輝
副査	筑波大学助教	博士 (生物工学)	小川 和義

## 論 文 の 要 旨

環境中では多くの細菌は単一で存在するのではなく、集団として存在していることが明らかになってきている。また、細菌は細胞間コミュニケーションを行うことによって、毒素生産、運動性、そしてバイオフィルムなどの挙動を制御することも明らかになってきている。細胞間コミュニケーションは、シグナル物質が細胞に到達し、受容体に結合することで初めてコミュニケーションが成り立つ。一方、菌の細胞の外側の表面には様々な細胞外多糖(extracellular polysaccharide, EPS)が存在することが報告されているが、これらのEPSの細胞間コミュニケーションに与える影響についてはまだ不明な点が多い。

本論文で、杨佳约氏は、EPSを高生産する緑膿菌ムコイド変異株を用いて、EPS生産が細胞間コミュニケーションに与える影響について研究を進め、EPS高生産により細菌シグナルの感受性が変化することを明らかにした。本論文では、第一に、キノロン系のシグナル物質であるPQSへの応答能力について調べてた。具体的には、ムコイド変異株のPQS生産遺伝子を欠損させた *mucA22Δ pqsA*(ムコイド)に、外部からPQSを添加することでそれに対する応答能力を調べた。その結果、*mucA22Δ pqsA*(ムコイド)においてPQSに対する応答能力が著しく低下したことから、ムコイド株はPQSに対して応答能力が顕著に低下していることを見いだしている。次に、PQSの構造と相似であるHHQについて、同様にムコイド変異株の応答能力について調べた。その結果、PQSを添加したときと同じように、*mucA22Δ pqsA*(ムコイド)でHHQに対する応答能力が著しく低下したことから、ムコイド株はHHQに対しても応答能力が顕著に低下していることが示された。さらに、それらが細胞外に存在するアルギン酸によるものかを明確にするため、*mucA22Δ pqsA*(ムコイド)のアルギン酸合成あるいはアルギン酸の細胞外分泌の各遺伝子破壊株を作製して調べた結果、PQS、HHQ両方ともそれらの応答能

力が回復した。続いて、N-アシル-L-ホモセリンラクトン系シグナル物質である 3-oxo-C12-HSL と C4-HSL に対しても同様にそれら生産遺伝子を欠損させたムコイド株を作製し調べた。しかし、それらのシグナルにおいては非ムコイド株と応答能力には変化がないことが示された。以上より、細胞外 EPS のアルギン酸はシグナルに選択的に作用し、結果的に細胞内へのシグナル流入の選択的阻害に寄与していることが示された。

ムコイド変異株は自然突然変異株として野生株から出現してくることが知られている。そこで、さらに野生株とムコイド変異株間での細胞間コミュニケーションについても解析を行い、野生株からのキノロン系シグナルにムコイド変異株は応答しないことを明らかにした。つまり、野生株に囲まれた状況でもムコイド変異株はシグナルに応答せず野生株細胞とは異なった表現型を示すことが示された。これらの成果をもとに、最後に著者は、細胞間コミュニケーションが低下しているムコイド変異株が出現する（させる）ことで、免疫系の攻撃から逃れるのではないかという自然突然変異と生存戦略の関係性について新たな仮説を構築した。

## 審 査 の 要 旨

微生物は様々な環境において集団で存在し、その中で細胞間コミュニケーションにより様々な表現型がもたらされることが明らかになってきている。そして、集団中のすべての細菌が一様にコミュニケーションつまりシグナル応答を行うと考えられている。しかし、本論文で著者は、細胞外多糖を過剰生産する緑膿菌ムコイド変異株を用いて、シグナル物質に対する応答がムコイド変異株では異なること、さらに、ムコイド変異株は野生株からのシグナルに応答しない、つまり同調しないことを明らかにした。これらは、細菌間コミュニケーションにおいても、不均一性が存在するという新たな知見を示唆するものである。

以上のように、本博士論文の自然突然変異株のシグナル応答が野生株と異なるという新たな知見は、当該分野において有用なものである。それは、学術面においてのみならず微生物制御の観点からも新たな糸口を与えるものとなることから高く評価できる。

平成29年1月17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。