

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 武田 俊春

核様体タンパク質 (NAPs) は細菌の細胞内に著量存在するタンパク質であり、DNA をコンパクトに折りたたむと共に、様々な遺伝子の転写制御に影響を及ぼすことが知られている。また、これら NAPs がプラスミド上にコードされる例も知られており、こうしたプラスミドが宿主細胞内に入ると、染色体・プラスミド双方にコードされる NAPs が協調的に機能し、遺伝子発現を制御することでプラスミド由来の難分解性物質分解能や抗生物質耐性といった多様な形質を宿主に付与したり、染色体に由来する種々の機能を変動させたりすることとなる。すなわち、プラスミドの機能発現様式を理解するためには NAPs の機能についての理解が重要となるが、プラスミド上にコードされる NAPs についての研究例は極めて限られていた。

本研究の目的は、プラスミド上にコードされる NAPs の機能、役割を明らかにすることである。本論文は 5 章からなり、背景を概説した 1 章に続いて、2 章においてプラスミド機能と NAPs に関連した基盤情報として NAPs 遺伝子のプラスミド上での分布・特徴について明らかにし、3 章・4 章において難分解性物質カルバゾールの分解プラスミド pCAR1 上にコードされる 3 種の NAPs (Pmr, Pnd, Phu) の性質と各々を除去することで宿主に生じる影響を網羅的に解析している。また、5 章では得られた結果に基づいて総合討論を行っている。

第 2 章では、1382 個のグラム陰性細菌由来プラスミドのうち、約 10% にあたる 136 個が主要な NAPs 遺伝子を保持すること、それらのプラスミドはサイズが大きく、G+C 含量が高い傾向があることを見出した。さらに、NAPs 遺伝子の有無とプラスミドの接合伝達性の間に関連性を見出している。この解析はプラスミド上に存在する NAPs 遺伝子について網羅的・客観的な情報を示した初めての例であり、細菌染色体上における NAPs 遺伝子の分布を考察する上でも、また遺伝子の水平伝播による細菌の進化を考察する上でも非常に有用な基礎的知見を提供するものと考えられる。

第 3 章では、pCAR1 上にコードされる NAPs である Phu, Pnd について、いずれもコハク酸を炭素源とする培地で培養した際にほぼ構成的に転写されること、Phu が  $\sigma^{70}$  因子依存性プロモーターの制御下にあることを明らかにしている。また、各 NAPs について大腸菌を用いた大量発現・精製系を構築し、Phu が二量体を形成すること、Pnd が多量体を形成する可能性が高いことを明らかにしている。この解析は、プラスミド由来の Phu が染色体由来の HU と同様の性質・機能を有する可能性が高いという興味深い事実を示している。

第 4 章では、pCAR1 上の 3 つの NAPs のうち 1 つあるいは 2 つを除去した破壊株を作製

することで、*pmr*を含む2つのNAPs遺伝子を除去した場合に初めてpCAR1構造が不安定化する表現型が発現することを明らかにした。また各破壊株について高密度タイリングアレイを用いてトランスクリプトームを比較し、各NAPsのレギュロンを網羅的に抽出した結果、2つのNAPs、3つのNAPsにより制御されると考えられる遺伝子がそれぞれ89個、75個と多数存在することが明らかとなった。さらに、各破壊株をPhenotype MicroArrayによる網羅的な表現型解析に供した結果、タイリングアレイ解析と同様に2つのNAPsによる複合的な制御下にあると考えられる表現型が多く見出された。また、PhuとPndでは、宿主の浸透圧ストレス耐性の発現において、その制御機構が異なる可能性も示唆された。以上の結果から、菌体内ではpCAR1由来の3つのNAPsのうちPmrが中心となって機能し、PndおよびPhuが補佐的に働くことで多数の遺伝子について協調的な転写制御を行い、菌体の表現型を決定している可能性が強く示唆された。本研究は、複数のNAPs遺伝子を保持するプラスミドにおいて、複数のNAPs遺伝子を除去した際の影響を網羅的に解析した初めての例であり、極めて新規性の高いものである。

以上、本論文は従来の研究とは一線を画し、プラスミド上にコードされる各NAPsの機能や、それらがプラスミド上にコードされる意義について客観的考察を可能とする基盤情報を提示すると共に、HUホモログやNdpAホモログなど新規NAPsの役割に関する情報を示すものである。また、難分解性物質分解酵素を有するプラスミドにおけるNAPsの機能を解析した初めての例でもある。これらの知見や考察は、細菌のゲノム機能やその進化に関わる学術研究のみならず、実際の環境汚染修復など応用分野においても貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。