

STUDIES ON THE SIGNAL TRANSDUCTION
NETWORK OF TWO COMPONENT SYSTEMS IN
ESCHERICHIA COLI

YOSHIDA, Myu / 吉多, 美祐

(開始ページ / Start Page)

1

(終了ページ / End Page)

66

(発行年 / Year)

2016-03-24

(学位授与番号 / Degree Number)

32675甲第377号

(学位授与年月日 / Date of Granted)

2016-03-24

(学位名 / Degree Name)

博士(生命科学)

(学位授与機関 / Degree Grantor)

法政大学 (Hosei University)

(URL)

<https://doi.org/10.15002/00013048>

博士學位論文
論文内容の要旨および審査結果の要旨

論文題目	STUDIES ON THE SIGNAL TRANSDUCTION NETWORK OF TWO COMPONENT SYSTEMS IN <i>ESCHERICHIA COLI</i>
氏 名	吉多 美祐
学位の種類	博士（生命科学）
学位授与年月日	2016 年 3 月 24 日
学位授与の条件	法政大学学位規則第 5 条第 1 項第 1 号該当者（甲）
論文審査委員	主 査 山本 兼由 教授 副 査 川岸 郁朗 教授 副 査 佐藤 勉 教授 副 査 朝井 計 准教授（埼玉大学）

2016 年 2 月 17 日

学位論文審査委員会

委員長 佐藤 勉 殿

学位論文審査小委員会

主査 教授 山本 兼由 

副査 教授 川岸 郁朗 

副査 教授 佐藤 勉 

副査 埼玉大学 理学部 准教授

朝井 計 

試問による学識確認の報告

法政大学学位規則第19条により、吉多 美祐 氏について、その論文を中心に関連する学問領域の試問を行った結果、合格と判定した。

以 上

(報告様式 I)

2016 年 2 月 17 日

学位論文審査委員会

委員長 佐藤 勉 殿

学位論文審査小委員会

主査 教授 山本 兼由 

副査 教授 川岸 郁朗 

副査 教授 佐藤 勉 

副査 埼玉大学 理学部 准教授

朝井 計 

吉多 美祐 氏 提出学位請求論文

「STUDIES ON THE SIGNAL TRANSDUCTION NETWORK OF TWO
COMPONENT SYSTEMS IN *ESCHERICHIA COLI*」

論文内容の要旨と審査結果の要旨 (報告)

1. 論文内容の要旨

生物は、多様な環境変化に晒されるが、その変化に適応し、生存する能力をもつ。多細胞生物は、環境変化に応じた細胞の分化により、多様な細胞集団群を形成し、その総合として多様な適応能をもつ個体を形成する。一方、一細胞で一個体をなす単細胞生物でも多様な環境適応能力を発揮する。ゲノム科学の発展により、生物がもつ全ての遺伝情報を理解できるようになった。したがって、ゲノム上に数千の遺伝子しか持たない細菌が示す多様な環境適応能力を、限られる環境応答システム間の機能相互ネットワークとして理解する研究が可能となってきた。

細菌の主な環境応答システムとして二成分制御系が知られる。二成分制御系は、細胞膜上のセンサーキナーゼと細胞質のレスポンスレギュレーターで構成され、細胞外の環境変化のシグナルをセンサーキナーゼが感知し、ATP 依存的な自己リン酸化し、その後リン酸基を同属レスポンスレギュレーターへ転移させ、リン酸化レスポンスレギュレーターは活性化型になり、適切な環境適応の生理機能を発現する。このセンサーキナーゼとレスポンスレギュレーター間のリン酸基転移反応による細胞内情報伝達は、特異的なペアで生じると考えられているが、少なくとも 3 つの段階 (Stage 1~3) で非ペアにおける情報交差が確認される。本論文では、モデル細菌とした大腸菌 K-12 株の全二成分制御系間で巧みに形成する特に Stage 3 における情報交差ネットワークシステムを明らかにした。さらに、機能が不明であったレスポンスレギュレーター YgeK の生理機能を解析し、細菌の多様な環境応答適応能は環境変化に応じた代謝や細胞の増殖と二成分制御系ネットワークが連携する新しいゲノム機能ネットワークを提案した。

本論文は、英文で記された全 5 章からなる。第 1 章では、本研究の背景と目的を述べた。大腸菌 K-12 株のゲノム情報を基盤として、ゲノム上の遺伝子構成、分子遺伝学や生化学的実験データから、大腸菌 K-12 株では約 30 種類のセンサーキナーゼとレスポンスレギュレーターのペアを予想した。これらのペア間以外に明らかとされる細胞情報伝達の交差を整理し、Stage 1 をセンサーキナーゼのシグナル感知、Stage 2 をセンサーキナーゼによるレスポンスレギュレーターのリン酸化、Stage 3 をレスポンスレギュレーターの標的認識の 3 つの段階における交差した情報伝達 (クロストーク) とした。これまでの知見から、Stage 1 では金属感知におけるクロストーク、Stage 2 については細胞内の実験でのクロストークに加え、精製センサーキナーゼとレスポンスレギュレーターを用いた試験管内での網羅的なリン酸基転移実験によって、多くのクロストークの存在を示した。一方で、Stage 3 については、レスポンスレギュレーター NarL と NarP 間でクロストークのみしか報告がなく、全体像は明らかとなっていない。そのために、知見の少ない Stage 3 クロストークについて大腸菌 K-12 株に存在する 5 つのファミリー (OmpR ファミリー、NarL ファミリー、NtrC

ファミリー、CriR ファミリー、LytT ファミリー) に分類される 31 種類のレスポンスレギュレーターについての網羅的解析およびこのうち機能が不明なレスポンスレギュレーター YgeK の機能解析を目的とした。

第 2 章では NarL ファミリー間の Stage 3 クロストークについて論じた。まず、大腸菌 K-12 株に存在する 5 つのファミリーのレスポンスレギュレーターのうち、モデルシステムとした 6 つの NarL ファミリーレスポンスレギュレーター間での Stage 3 クロストークに着目した。6 つの NarL ファミリーレスポンスレギュレーターを大腸菌細胞内で活性化する実験系を構築し、それぞれの特異的標的遺伝子発現への影響を包括的に調べた結果、いくつかの Stage 3 クロストークを示唆された。さらに、6 つの NarL ファミリーレスポンスレギュレーターの精製標品を用い、標的遺伝子へ直接作用を生化学的に調べることで、NarL ファミリーレスポンスレギュレーター間での Stage 3 クロストークは限定的な組み合わせで起きていることを見出した。

第 3 章では OmpR ファミリー間の Stage 3 クロストークについて論じた。第 2 章を大腸菌ゲノムワイドに展開させるため、14 つの OmpR ファミリーレスポンスレギュレーター間での Stage 3 クロストークの網羅的解析を実施した。14 つの OmpR ファミリーレスポンスレギュレーターを大腸菌細胞内で活性化する実験系を構築し、それぞれの特異的標的遺伝子発現への影響を包括的に調べた結果、NarL ファミリーと同様に Stage 3 クロストークは限定的な組み合わせで起きていることを確認した。

第 4 章では、大腸菌 K-12 株で機能が未知なレスポンスレギュレーター YgeK の解析について論じた。機能未知レスポンスレギュレーター YgeK の細菌間保存性を詳しく調べたところ、YgeK には大腸菌 O157:H7 Sakai 株などに保存されるリン酸化部位を持たない全長の YgeK と、大腸菌 K-12 株などに保存されるレシーバドメインを持たない短い YgeK の 2 種類が存在することを見出した。大腸菌において全長 YgeK の発現させたところ、温度依存的にバイオフィーム形成調節することを確認した。さらに、低温における全長 YgeK 依存的バイオフィーム抑制には、酢酸代謝酵素遺伝子 *ackA* と *pta* が必要であった。様々な条件で *ygeK* 欠失株の生育を測定した結果、酢酸を炭素源とする培地で野生株と比べて生育の遅延が観察された。さらに、*ackA* 欠失株、*pta* 欠失株でも同様の酢酸培地における生育遅延が観察された。これらの結果から、YgeK は大腸菌に保存される構造が異なる 2 種類存在し、特に O157:H7 Sakai タイプである全長 YgeK が酢酸代謝酵素遺伝子に依存してバイオフィーム形成を調節することを見出した。さらに、*ygeK* 欠失株の酢酸を炭素源とする条件での生育遅延から、YgeK の環境適応は代謝と密接に連携していることを示唆した。

第 5 章では、本論文の結論として、得られた研究成果を要約し、総括をし、今後の展望を述べた。

2. 審査結果の要旨

本学位請求論文は、自然界で多様な環境に応じて生存できる生物機能をゲノム全遺伝子機能発現動態の変化として捉えるゲノム科学研究に位置付けられる。論文は、細菌に保存される単純な環境適応細胞情報伝達システム二成分制御系に注目し、モデル生物・大腸菌を対象に網羅的な解析を行い、二成分制御系の情報交差ネットワークシステムを提案した。さらに、細胞質に存在するゲノム発現制御因子であるレスポンスレギュレーターが、細胞情報伝達に依存せず、環境変化に応じる代謝変化と連携していることを示し、新たなゲノム発現制御ネットワークについて示唆した。審査の結果、以下の点について、学術的な新規性が優れていることが認められた。

- (1) 細菌の環境応答の細胞情報伝達システムでは、ゲノム上の遺伝子発現制御における情報交差は極めて限定的であり、二成分制御系情報交差ネットワークシステムの全体像の理解に貢献した。
- (2) 限定的情報交差から、大腸菌ゲノム上に複数二成分制御系により制御される遺伝子が存在し、その重要性を浮き彫りとした。

よって、本審査小委員会は全会一致をもって提出論文が博士（生命科学）の学位に値するという結論に達した。

(報告様式Ⅲ)