

橋本幹弘氏の博士論文「長期細胞動態計測を用いた大腸菌の増殖と適応の解析 (Analysis on growth and adaptation of *Escherichia coli* with long-term measurement of cellular dynamics)」では、大腸菌の長期1細胞計測を実現する新たな計測デバイスの開発と、それを用いた大腸菌の増殖ゆらぎの解析、抗生物質に対する適応応答の解析の結果について述べられており、全5章より構成されている。

第1章では、研究背景として、同じ遺伝情報をもつクローン細胞集団の中であっても、個々の細胞の遺伝子発現量や成長などの表現型に大きなばらつきがあり、このような「表現型ゆらぎ」がストレス環境への適応や進化などで重要な役割を担っていることを過去の研究例を踏まえながら述べている。また、表現型ゆらぎの性質を同定するために主に用いられてきたフローサイトメーターを用いた計測では、細胞の時系列情報を取得できないという問題を指摘し、それに代わる計測技術が必要であることが説明されている。

第2章では、100世代以上の長期にわたって細胞状態の時系列情報を取得できる新たな計測デバイス「ダイナミクスサイトメーター」の開発について述べられている。橋本氏は、デバイスの満たすべき条件として、第一に細胞の指数関数的増殖に伴う細胞数の増加に対処できること、第二に細胞が増殖していく中で個々の細胞の時間的対応関係を同定できること、第三に細胞増殖に伴う環境条件の変化を回避し、実験者により環境条件を制御できることを挙げ、実際にこれら条件を満たすダイナミクスサイトメーターの装置構成を説明している。さらに、実際にこのデバイスを用いることで、少なくとも170世代以上の長期1細胞追尾計測ができることを実験結果とともに示している。

第3章では、ダイナミクスサイトメーターを用いた大腸菌の増殖ゆらぎの解析について述べられている。様々な定常環境下での大腸菌の世代時間分布を計測するとともに、集団の増殖率も同時に取得することで、細胞の世代時間の平均より、集団において細胞数が2倍になるのに要する時間(ダブリングタイム)が短くなることを明らかにしている。また、この相対的な差が世代時間のゆらぎの大きさと正の相関をもつことを示し、ゆらぎが大きくなるほど集団が速く成長できるというゆらぎの役割を明らかにしている。また、細胞集団の年齢分布や、長期細胞時系列上の年齢分布が、年齢構造化個体群モデルに基づく予想と定量的に一致することが示されている。

第4章では、抗生物質クロラムフェニコールに対する耐性遺伝子を発現する大腸菌の薬剤投与に対する適応応答に関する実験結果が述べられている。まずウェル型のマイクロチャンバーを用いた1細胞解析により、ある薬剤濃度では、クローン集団内に安定に増殖できる状態に移行する細胞と、死ぬ細胞が共存することを明らかにし、またその運命決定には薬剤投与時の耐性遺伝子の発現量は大きく寄与していないことも明らかにしている。さらにダイナ

ミクスサイトメーターを用いた長期計測により、薬剤投与後一度強くなった耐性遺伝子の発現量と細胞の体積増加率の正の相関が、薬剤投与環境下で成長率が回復するにつれ失われるという興味深い新知見を見出すことに成功している。

第5章では、以上の結果をまとめるとともに、本論文の成果の意義、将来展望が述べられている。

以上、橋本氏の博士論文で述べられた研究では、独創性の高い新規計測技術の開発に成功するとともに、細胞増殖ゆらぎの適応的意義、細胞と細胞集団の本質的な差、適応応答のクローン細胞間での不均一性、適応過程における遺伝子発現の役割の変容といった重要な生物学的知見の提供に成功している。本論文の内容の一部は共同研究に基づくものであるが、その実験、解析は橋本氏が中心になって行ったものと認められる。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。