

審査の結果の要旨

氏名 木村 知宏

希少放線菌 *Actinoplanes missouriensis* は土壌に生息し、栄養豊富な条件下では菌糸を伸ばして生育するが、栄養源が枯渇すると多数の胞子を内包した胞子嚢を形成して休眠状態になる。胞子嚢は水と土壌中の何らかの物質を感知すると開裂し、胞子を放出する。胞子は直径 $0.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ の球形で、平均 15 本のべん毛を持ち、胞子嚢から放出されると直ちに、べん毛を回転させることで平均 $240 \mu\text{m} / \text{sec}$ 程度という高速で水中を泳ぐ遊走子となる。遊走子は走化性によって生育に適した栄養豊富な環境へ到り、遊走を停止して発芽し、菌糸生長へと移行する。単純な細胞分裂による増殖だけではなく、複雑な形態分化を含む生活環は、本菌最大の特徴といえる。

本論文は、*A. missouriensis* の遊走子が示す様々な現象のうち、遊走子の運動器官であるべん毛の形成過程、遊走を停止する際のプレーキタンパク質、遊走を停止後に足場への付着に関与する線毛の 3 点に着目して行った研究をまとめたものである。研究背景について記述した序論および全 4 章からなる本論から構成されている。

序論では、これまでの *A. missouriensis* の研究および本論の各章の内容に対する過去の知見を整理するとともに、*A. missouriensis* の遺伝子操作系の改良について記されている。

第 1 章では、胞子嚢形成期特異的に転写が増大する遺伝子群を対象とした遺伝子破壊による機能スクリーニングの中で発見した、べん毛形成に必須なチオレドキシリン TrxA の機能解析がまとめられている。*trxA* 破壊株の遊走子はべん毛を形成せず、ゲノム組込み型ベクターによる遺伝子相補でこの表現型は回復した。一方、チオレドキシリン活性に必須な CXXC モチーフを変異させた TrxA でもべん毛形成が見られたこと、*Streptomyces griseus* の持つ TrxA ホモログ (SGR690) ではべん毛形成能を回復できなかったことから、TrxA の機能はチオレドキシリン活性以外に依存していることが示された。そこで、TrxA と SGR690 で異なっているアミノ酸残基(群)に、べん毛形成に必須なアミノ酸残基(群)が存在すると仮定し、キメラタンパク質発現株の作製と表現型観察を行い、“EKVEQ”という 5 残基がべん毛形成に必須であることを示した。さらに、バクテリアツーハイブリッド法によるスクリーニングの結果、TrxA は FliC シャペロンである FliW と相互作用することが強く示唆された。遺伝学的解析の結果と合わせ、TrxA は FliC-FliW 間の結合を阻害することで正常なべん毛形成を行わせているというモデルが示された。

第2章では、走化性遺伝子クラスター中に存在する、遊走子のブレーキタンパク質 (FtgA) の機能解析について述べられている。FtgA は機能既知タンパク質とは相同性を示さないため、その作用機構に興味を持たれていた。そこで、FtgA がブレーキとして作用する際の作用対象を特定するために、UV 照射による変異導入実験とバクテリアツーハイブリッド法によるスクリーニングが行われ、後者によって、FtgA がべん毛基部の C-ring を構成する FliG、FliN、FliI と相互作用することが示された。また、FtgA が自身と相互作用することから、ブレーキとして機能する際に多量体を形成していることが示唆された。さらに、遺伝学的解析により、FtgA は走化性遺伝子群とは独立して、ブレーキとして機能することも示された。

第3章では、遊走子表面に存在する線毛の機能解析が記されている。電子顕微鏡による線毛構造の観察では、線毛は直径 7 nm 程度の構造をとることが示された。また、線毛遺伝子破壊株の遊走子は固体表面への付着能が 80%程度低下することが示された。さらに、種々の観察結果より、遊走子は栄養を感知した際に線毛を用いて固体表面へ積極的に付着し、発芽後の足場を得ることが示唆された。

第4章では、第1章から第3章で行った研究を総括した総合討論がなされている。*A. missouriensis* がべん毛や線毛といった他の細菌の持つシステムを遊走子特異的に発現させる形で利用するとともに、TrxA の機能分化や新規ブレーキタンパク質 FtgA の獲得を通して、独自の生活環を進化させてきたという考察がなされている。また、これを微生物が特徴的なニッチに適応していく具体例の一つとして捉えることで、本研究を俯瞰している。

以上、希少放線菌の運動性胞子が示す高速遊走運動の分子基盤に関するこれらの研究成果は、学術上応用上寄与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。