

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	FATIN IFFAH RASYIQAH
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
<p>Identification and Characterization of <i>Escherichia coli</i> Chromosomal Genes whose Deficiency in Donor Cells Enhances Bacterial and <i>Trans</i>-kingdom Conjugations by IncP1 T4SS Machinery</p> <p>(細菌間接合と生物界間接合の効率が変異によって向上する大腸菌染色体遺伝子の探索と解析)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	鈴 木 克 周	
審査委員	教 授	山 口 富 美 夫	
審査委員	教 授	草 場 信	
審査委員	講 師	守 口 和 基	
〔論文審査の要旨〕			
<p>細菌は遺伝子を頻繁に外部から取り込むことによって環境の激しい変化に対処することができる。この結果として、同一種内の菌株間で、ゲノム DNA が数十%異なることも多い。このダイナミックなゲノムの流動性を可能にする仕組みの 1 つが接合伝達である。接合伝達現象は 1940 年代に発見されて以来、活発に研究が行われ、DNA を送り出す側の細菌（供与菌）は細胞膜に 4 型分泌装置と総称されるタンパク質複合体を持ち、DNA を受け取る側の細菌（受容菌）と細胞同士を接触させて DNA を送り込む。4 型分泌装置の部品タンパク質の遺伝子を含めて接合伝達に直接的に関わる遺伝子を具備するプラスミドは接合プラスミドと呼ばれる。門や綱レベルで異なる種の細菌でも複製できる広い宿主域を示す広宿主域プラスミドが遠縁な種の細菌に DNA を輸送できる広伝達域性の接合遺伝子を併せ持つことによって急速な遺伝子の拡散が生じ、薬剤耐性菌が急速に蔓延するなどの社会問題の原因にもなっている。RP4 など広い接合伝達域を示す IncP1 タイププラスミドを持つ大腸菌は真核生物の酵母菌や古細菌へも遺伝子を注入することが可能である。細菌の接合伝達に直接的に関わる遺伝子は詳細に研究されているのに対して、接合伝達に関与する染色体遺伝子についての研究は遅れている。本論文の著者は染色体上の各遺伝子が欠失している大腸菌変異体シリーズ (KEIO Collection) を用いて IncP1 α タイププラスミドによる酵母菌へのプラスミド輸送を調べるスクリーニングを行うことによって、酵母菌へ高い頻度で接合伝達できる変異株を 3 株 ($\Delta frmR$, $\Delta sufA$, $\Delta iscA$) 見出した。鉄硫黄クラスターの合成に関与する <i>sufA</i> 遺伝子と <i>iscA</i> 遺伝子の欠失変異体とホルムアルデヒドを検知するオペロンの調節遺伝子 <i>frmR</i> を欠失した各変異体である。3 株の変異体では大腸菌を受容菌とする接合伝達の頻度も高まっていた。IncP1 α タイププラスミドに対するのと同様に、IncP1 β タイププラスミドの接合伝達をも向上させたが、他の広い宿主域と伝達域を示すプラスミドである IncW および IncN タイププラスミドの接合頻度には影響しなかったため、3 つの変異の効果は IncP1 タイププラスミドの接合伝達に特化しているとい</p>			

える。これらの変異を多重に持つ変異体は個別の遺伝子のみの変異体と同程度の効率であり、3つの変異は加算的に作用しないことから、接合が向上する仕組みは3つの各遺伝子間で共通であると推測される。3つの変異体では、接合に直接的に働く遺伝子の発現量は上昇していないので、3つの遺伝子の産物は接合に作用する因子の働きを遺伝子発現以降の段階で抑制していると考えられる。網レベルで異なる遠縁な細菌において上記3遺伝子のホモログ遺伝子を欠失させると大腸菌変異体同様に接合伝達が向上したことから、3遺伝子が IncP1 タイプ接合伝達に及ぼす染色体遺伝子の仕組みは広く維持されていると言える。今後、本研究が予見する3つの遺伝子の産物が抑制的に作用する接合関連遺伝子を解明することによって広域接合伝達の理解が進むと期待できる。また、変異体を利用することで多くの生物に効率よく遺伝子導入することが可能となる。

上記の以上の研究成果は、広域接合伝達に関与する染色体遺伝子の働きを示し、遺伝子導入に有用な技術素材を提供するものであり、今後の細菌から真核生物への遺伝子輸送の研究に貢献するものとして評価できる。以上、審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

Zoolkefli, F. I. R. M., Moriguchi, K., Cho, Y., Kiyokawa, K., Yamamoto, S., Suzuki, K. (2021). Isolation and Analysis of Donor Chromosomal Genes whose Deficiency is Responsible for Accelerating Bacterial and Trans-kingdom Conjugations by IncP1 T4SS Machinery. *Frontiers in Microbiology* (Frontier series, Lausanne) 12(620535), 1-13.

参考論文

Moriguchi, K., Zoolkefli, F. I. R. M., Abe, M., Kiyokawa, K., Yamamoto, S., Suzuki, K. (2020). Targeting Antibiotic Resistance Genes is a Better Approach to Block Acquisition of Antibiotic Resistance than Blocking Conjugal Transfer by Recipient Cells: A Genome-Wide Screening in *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology* (Frontier series, Lausanne) 10(2939), 1-9.

Zoolkefli, F. I. R. M., Go., P. S., Tan, B. C., Rejab, N. A., Othman, R. Y., Khalid, N. (2020). *Nicotiana tabacum* as a Potential Platform for the Production of Recombinant Anti-*Toxoplasma* Single-Chain Variable Fragment (scFv) Antibody. *Malaysian Journal of Science*. 39(2), 1-26.

Wong, S. M., Zoolkefli, F. I. R. M., Karim, R., Tan, B. C., Harikrishna, J. A., Khalid, N. (2015). Stable Integration of *mgfp5* Transgenes following *Agrobacterium*-mediated Transformation in *Boesenbergia rotunda* Cell Suspension Culture. *Frontiers in Life Science* (Taylor and Francis Ltd.) 8(3), 249-255.