

氏 名 竹中 伸巧郎

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 2372 号

学位授与の日付 2022 年 9 月 28 日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Emerging process of genetic exchange communities in lactic acid bacteria

論文審査委員 主 査 中村 保一
遺伝学専攻 教授
黒川 顕
遺伝学専攻 教授
北野 潤
遺伝学専攻 教授
仁木 宏典
遺伝学専攻 教授
遠野 雅徳
農業・食品産業技術総合研究機構
基盤技術研究本部 遺伝資源研究センター
上級研究員

(様式3)

博士論文の要旨

氏 名 竹中 伸巧郎

論文題目

Emerging process of genetic exchange communities in lactic acid bacteria

In prokaryotes, a major contributor to genomic evolution is the gene exchange via horizontal gene transfer (HGT). Bacterial populations with a high HGT frequency are defined as genetic exchange communities (GECs) and often arise in shared ecological niches, characterized by symbiotic interactions and/or phylogenetic closeness. Although some phenotypes are known to be associated with specific ecological niches linked to GECs, little is known about the phenotypic influences on GECs in a specific taxonomic family with concrete genomic evidence.

Here I investigate the relationship between bacterial evolution and GECs in ecological niches using phenotypic and genomic data in lactic acid bacteria (LAB). I focus on information on phenotypic features because they reflect the ecological niche of bacteria. LAB produces lactic acid by fermenting carbohydrates and inhabits various ecological niches that are involved in the human industry such as fermented foods. They inhabit specific ecological niches, such as fermented milk products, meats, cereals, and vegetables. These are suitable properties as a material for the investigation of GECs in ecological niches. Since they are involved in human activity, a lot of genomic and phenotypic data of LAB are accumulated. Therefore, phenotypic and genomic features in LAB can elucidate the relationships between bacterial evolution and GECs in ecological niches.

I selected 178 strains of 24 genera from the Lactobacillaceae family to clarify factors contributing to the formation of GECs. In this family, the genus *Lactobacillus* has recently been reclassified into 25 genera and their phenotypes such as sugar utilization, growth temperature and oxygen tolerance have been well investigated and

documented. Moreover, they exhibit diverse genomic features; while *Lactobacillus apis* has small genomes such as 1.70 Mbp, *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* has big genomes such as 3.45 Mbp. Therefore, the group that was previously identified as the genus *Lactobacillus* provides an adequate sandbox to study the influence of ecological niches on HGT in relation to phenotypes, ecologies and genotypes.

The way LAB constructed GECs in an ecological niche was investigated to analyze their phenotypes, habitats, and ortholog networks. I found that phenotypes to utilize various sugars contribute to forming GECs. The statistical analysis revealed that sugar utilization influences frequent HGT in LAB. To confirm the association between sugar utilization and GECs, the concept of the Average number of Sugar Utilization for the ortholog (ASU) was introduced. Using the ASU, two groups of orthologs were compared, i.e. the orthologs shared dominantly by strains that were able to use a variety of sugars (generalist) and those that use only a few sugars (specialist). As a result, while the networks of orthologs predominantly shared by the specialist groups for sugar utilization were connected only within the same genera, the networks of the generalist groups were connected across genera. In addition, the genes in the generalist group ortholog have encoded not only phenotypes involving sugar utilization, but also the phenotypes to adapt to various environments: stress responses, bacteriocin production, antibiotic resistance, survival in the intestinal environment and heavy metal resistance. The strains in the generalist network are presumed to use these genes for sharing niches such as vegetables, dairy products and brewing-related environments. This feature is consistent with the fact that the Lactobacillaceae family contributes to the production of a wide variety of fermented foods. The results suggest the phenotype to utilize various sugars contribute to forming GECs in the ecological niche of LAB.

Next, I investigated whether the niche construction and GECs affect the genetic diversity in a LAB genome. The bacteria with genetic diversity tended to have opportunities for gene gain events. Gained genes that encode phenotypes for adaptation

to environments contribute to the formation of GECs in various ecological niches. Through multiplicative events, a higher frequency of gene gain events in generalists may further broaden their niche breadth compared to specialists.

In conclusion, to reveal the process of forming GECs in the ecological niche, I investigated phenotypic and genomic factors in 178 strains of 24 genera in Lactobacillaceae. The results suggested that the capability of utilizing various sugars cast a large influence to form GECs in ecological niches. In addition, genetic diversity may contribute to further increasing opportunities for gene gain events in LAB. Thus, metabolic capabilities associated with ecological niches contribute to form GECs, which may further promote genetic diversities, balancing against the pressure to reduce genomes.

博士論文審査結果

Name in Full
氏名 竹中 伸巧郎

Title
論文題目 Emerging process of genetic exchange communities in lactic acid bacteria

原核生物において、遺伝子の水平伝播はゲノム進化に大きく寄与することが知られている。遺伝子の水平伝播の頻度の高い細菌集団は遺伝的交換群集(GEC)と呼ばれ、共生的な相互作用を有したり近接した系統に属するといった、生態的ニッチを共にする集団と考えられる。申請者は、乳酸菌の表現型とゲノム塩基配列データを用いて、生態的ニッチにおける細菌の進化と GEC との関係についての研究を実施した。24 属 178 株の乳酸菌を対象として、生態的ニッチごとの GEC を調べ、その表現型、生息環境、オルソログネットワークを分析した。その結果として乳酸菌が様々な糖を利用する表現型が GEC 形成に関わり、統計解析により糖利用度が乳酸菌に於ける頻繁な遺伝子の水平伝播に影響を及ぼすことを示した。さらに申請者は糖利用度と GEC との関連を確認するために、オルソログの平均糖利用数(ASU)という概念を考案し、ASU を用いることにより、様々な糖を利用できる株(ジェネラリスト)と少数の糖を限定的に利用する株(スペシャリスト)に共有されるオルソロググループを比較した。その結果、糖利用に於けるスペシャリスト株の群の多くが共有するオルソログのネットワークは同じ属間のみで接続されているのに対し、ジェネラリスト株群のネットワークは属を越えて繋がりを持つ傾向を有することがわかった。さらにジェネラリスト株群のもつ遺伝子は、糖利用を伴う表現型だけでなく、ストレス応答、バクテリオシン産生、抗生物質耐性、腸内環境での生存、重金属耐性といった、環境適応に必要な様々な遺伝子群を含むことを示した。すなわち、ジェネラリストのコミュニティに属する菌株は、野菜、乳製品、醸造関連などに生息環境を共有することでネットワークを形成しており、その特徴は乳酸菌が多種多様な発酵食品の生産に寄与していることと整合する。この結果は、様々な糖を利用する表現型が、乳酸菌の生態的ニッチにおいて GEC の形成に寄与していることを示唆している。また、申請者はニッチ構築と GEC が乳酸菌ゲノムの遺伝的多様性に影響を与えているかどうかを検討した。その結果、遺伝的多様性を持つ細菌は遺伝子を獲得するイベントをより多く持つ傾向が観察された。環境適応のための機能を持つ獲得遺伝子は様々な生態的ニッチにおいて GEC 形成に寄与しており、ジェネラリストはスペシャリストに比べ、遺伝子獲得イベントの頻度が高く、そのためスペシャリストと比較してさらにニッチを広げている可能性がある。すなわち、生態的ニッチに関連した代謝能力は GEC の形成に寄与し、ゲノム塩基配列長の削減へと向かう圧力とバランスを取りながら、遺伝子の多様性を促進していると申請者は考察した。

申請者はこれまで具体的なゲノム情報による証拠が得られていなかった特定の分類群における GECs の表現型への影響について、乳酸菌に着目して生態的ニッチにおける細菌の進化と GEC との関係に関する独自性のある博士研究を実施した。以上の理由により、審査委員会は、本論文が学位の授与に値すると判断した。