

大学院教育支援機構 企業寄附奨学制度（DDD） 報告書

氏名	中根 摩耶
研究科・専攻	農学研究科 食品生物科学専攻
修士/博士・学年	修士 1 年
支援企業名	株式会社ニッポン

・提出期限：2025 年 3 月 28 日（金）17：00

・ページ数に制限はありません。

・写真や図なども組み込んでいただいて結構です。

・各項目について具体的に記述してください。

・大学院教育支援機構のウェブサイト公開します。

奨学金を得て行った研究の成果

研究テーマ：「大豆上に生育する枯草菌の空洞化の生理的意義と分子機構に関する研究」

【背景】

枯草菌 *Bacillus subtilis* は土壌や植物などに広く存在し、グラム陽性菌のモデル生物として広く研究されている。また、納豆の製造に関わる「納豆菌」も *B. subtilis* の一種であり、蒸大豆に納豆菌を生育させることで納豆が製造されている。当研究室では、納豆発酵時における細菌の挙動に関する研究が進められてきた。その研究の過程で、納豆菌を大豆上で長期間培養すると菌体に穴が開き、細胞内容物が流出する「空洞化」という現象が発見された¹。本現象は納豆菌のみならず、細菌研究においてより一般的な菌株である *B. subtilis* 168 株でも観察された²。空洞化は固体培地（蒸大豆を含む）のみでみられる点や、空洞の位置が細胞極に偏在している点において既知の現象である溶菌（細菌の細胞壁が壊れて死滅する現象）と異なっており、細菌の未知の生存戦略に関わっている可能性がある。

【目的】

空洞化の生理的意義と分子機構の解明

【方法・結果】

1. 生理的意義

空洞化の生理的意義として、大豆と菌体の相互作用に関わる可能性を検証する実験を行った。

その結果、空洞化が起こる野生株では、非空洞化株に比べて大豆との相互作用が高まることが明らかになった。これにより、一部の細胞が空洞化することで、周囲の生きた細胞が栄養源である大豆へアクセスしやすくなり、全体の生菌数保持に寄与する可能性を見いだした。

2. 分子機構

先行研究において既に 2 つの空洞化関連遺伝子（以下、A, B とする）が同定されているが、これらの直接的な相互作用は報告されていない。そこで、未知の空洞化関連遺伝子が存在する可能性を考え、その探索を行った。空洞化に関与する遺伝子・タンパク質を発見するため、遺伝子発現産物の網羅的解析（トランスクリプトミクス）とタンパク質の網羅的解析（プロテオミクス）を実施した。これらの解析には、野生株に対する比較対象として、既知の空洞化関連遺伝子 A, B

¹ Sugiura *et al.* (2020).Sci. Rep., 10, 18691

² 長瀬(2021) 京都大学大学院農学研究科修士論文

をそれぞれ欠損させ、空洞化が起こらなくなった非空洞化株 A、非空洞化株 B を用いた。

その結果、遺伝子 A、B を欠損させると遺伝子発現産物、発現タンパク質ともに大きな変化が生じることが分かった。今回行った 3 つの解析の全てにおいて、非空洞化株での発現が野生株に比べて低下している遺伝子・タンパク質を空洞化関連候補遺伝子・タンパク質として絞り込んだ。

【発表実績】

2024 年度日本農芸化学会関西支部大会（第 532 回講演会） 口頭発表

産学協同の取組における成果

ニッパンの社員様を交えた研究発表会で研究報告を行った。発表後の質疑応答では、研究室内のセミナーや学会等で得られる指摘とは異なる観点からご意見・ご質問を頂いた。技術職の方からは企業における本研究内容の産業への応用可能性に関するご意見を、人事担当の方からは研究活動で習得した能力の活用方法についてご質問を頂いたことで、事業化を見据えた企業ならではの視点から自身の研究を見つめなおす貴重な機会となった。

また、ニッパンの社員の皆様との座談会の時間を設けていただいたことで、会社の事業内容・業務内容に関する理解が深まり、修了後の自身のキャリアを考える上で大変有意義な経験となった。

今回の取組で得られた気づきをもとに、広い視野をもって研究活動に取り組み、さらなる成果を生み出したいと考える。

今後の展望

今後は、トランスクリプトミクス・プロテオミクスの結果から絞り込まれた空洞化関連候補タンパク質の遺伝子欠損株を観察し、空洞化の有無を確認する。これにより新規空洞化関連タンパク質の発見を目指す。

また、既に空洞化への関与が明らかになっているタンパク質 B の機能解析を予定している。タンパク質 B は空洞化に必須であることは明らかになっているが、空洞化への関与の詳細な機構については不明である。そのため、遺伝子 B の欠損株に再度遺伝子 B を導入した相補株や、変異型のタンパク質 B を発現する株の空洞化観察、及び、タンパク質 B の抗体を用いた局在性解析などによって、空洞化におけるタンパク質 B の機能を明らかにしたいと考えている。

これらの実験を通して、空洞化が起こる際の一連の分子機構を解明したい。