

# 審査の結果の要旨

氏名 中島 悠

本博士論文は3章より構成されており、第1章は海洋細菌 *Rubricoccus marinus* SG-29<sup>T</sup> から見つかった新しいロドプシンについて、第2章はレチナール合成遺伝子を持たない *Aurantimicrobium minutum* KNC<sup>T</sup> のロドプシン活性について、第3章は海洋フラボバクテリア *Nonlabens marinus* S1-08<sup>T</sup> の遺伝子発現解析について、その他に緒言、総合考察からなっている。

2000年に海洋微生物を対象とするメタゲノムが行われた結果、光受容体として知られているロドプシンが原核生物に広く分布することが見出された。海洋から見つかった新たなロドプシンは、異種発現解析から“光駆動型プロトンポンプ”であることが確認され、プロテオロドプシン（以下PR）と名づけられた。また、2013年にはNa<sup>+</sup>輸送型のロドプシンであるNaR、2014年にはCl<sup>-</sup>輸送型のClRが発見され、様々な機能のロドプシンが知られている。しかしながら、ロドプシンに関する研究は次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析が先導してきた分野であり、分離株を用いた基礎的な知見が圧倒的に不足しているのが現状である。本論文では分離株を用いた培養実験を主軸にし、これまで未解明であった生理的・進化的な課題の解明を目指している。緒言ではそうしたロドプシン研究の学術的背景を記述するとともに、これまで研究で見落とされてきた問題点やその解決策がまとめられている。

1章では、海洋細菌分離株SG-29<sup>T</sup>の全ゲノム解析から未知ロドプシン遺伝子を見出し、その機能と進化の解析を行っている。今回新たに見つかったロドプシン遺伝子は既知のどのグループにも属さなかったため、異種発現解析を行い光駆動型Cl<sup>-</sup>ポンプであることを明らかにし報告している。また分子系統解析から、高度好塩古細菌が有するCl<sup>-</sup>ポンプに近縁であることを明らかにした。これらの結果は、SG-29<sup>T</sup>が好塩古細菌からロドプシンを水平伝播で受け取った可能性を示している。1章の結果は、新規ロドプシンの発見のみならず、ロドプシンの多様化経路に新たな可能性を示す重要な知見と言える。

2章では、ロドプシンの発色団であるレチナールの生合成に関わる遺伝子 (*blh*) を持たないロドプシン保有細菌がどのようにレチナールを獲得するのかを培養実験から明らかにすることを試みている。これまで *blh* を持たない株はレチナールを合成できないため、外部から何らかの方法でレチナールを獲得していると考えられてきた。しかしながら、*blh* を持たないロドプシン保有細菌を培養し、ロドプシンのイオン輸送活性を調べたところイオン輸送が観測された。2章では、環境中に広く存在する *blh* 非保持ロドプシン保有細菌が未知の経路でレチナールを合成する可能性を報告している。

3章では、3つのロドプシン (PR, NaR, ClR) を同時に持つ海洋細菌分離株 S1-08<sup>T</sup> を用いて、それぞれのロドプシンがどのような条件で役立つのかを明らかにするため、網羅的発現解析を行っている。海洋細菌からこれまでに H<sup>+</sup>ポンプ (PR)、Na<sup>+</sup>ポンプ (NaR)、Cl<sup>-</sup>ポンプ (ClR) の3つのイオンポンプ型ロドプシンが見つかったが、複数のロドプシンを持つ生理的理由に関しては全く分かっていない。本研究に用いた培養株がNa<sup>+</sup>とCl<sup>-</sup>を輸送するロドプシンを保有することから、塩分濃度が遺伝子発現に影響すると仮説を立て解析を行っている。その結果、PR, NaR は暗条件に比べて明条件の発現

量が常に高く、塩分濃度が発現に与える比較解析からは、低塩分・高塩分の培地でその発現量が高くなることを見出している。このことから、ロドプシンの発現は光条件のみならず塩分ストレスにも影響を受ける可能性が示された。これまで複数のロドプシンを持つ株を用いた発現解析は行われたことがなく、機能の異なるロドプシンの生理的役割に関する重要な知見を報告している。

2000年以降に展開された微生物型ロドプシンの研究は、遺伝子解析技術の進歩とともに発展してきた。それ故、比較的簡単に得られる環境中のロドプシン遺伝子の量や多様性などに関する研究に比べ、その生理的機能を対象とした研究は圧倒的に不足している。本博士論文では、ゲノム情報や網羅的発現解析と言った最新の手法と、従来手法である培養実験を組み合わせることで、これまで見落とされてきたロドプシンの生理的役割に新たな知見を加えたと考える。

なお、本論文の第1章は、木暮一啓、吉澤晋、熊谷洋平、Jaeho Song、小椋義俊、林哲也、塚本卓、菊川峰志、出村誠、須藤雄気との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（環境学）の学位を授与できると認める。

以上1991字