

審査の結果の要旨

氏名 小倉 一将

硫黄は炭素、水素、酸素、窒素などと並んで、生命活動に必須な元素である。生体において、硫黄はアミノ酸やビタミンなどに含まれる他、一部の微生物（光合成細菌、鉄酸化細菌、水素細菌、古細菌など）では、無機硫黄化合物が代謝の電子供与体や電子受容体として機能する。特に水素細菌や古細菌の硫黄代謝を研究することは、初期生命の代謝を考察する上で重要であると考えられているが、それらの硫黄代謝に関する知見は、進化的に比較的新しい微生物（光合成細菌、鉄酸化細菌）の知見と比較しても非常に少ない。本研究では好熱性の水素細菌である *Hydrogenobacter thermophilus* が研究対象として用いられた。本菌は、チオ硫酸を唯一の電子源として生育することが可能であり、また、16S rRNA を用いた系統解析からは、進化的に古い起源を有することが知られている。このような背景から、本研究では特に *H. thermophilus* のチオ硫酸酸化代謝に着目し、その全貌を明らかにすることを目的として研究が行われた。

本論文は3章からなる。

第一章第一節では本菌における硫黄酸化酵素の生理学的解析がなされた。遺伝子破壊株を用いた表現型観察の結果、メタン生成菌におけるヘテロジスルフィドレダクターゼ (**Hdr**) と同源性のある酵素が硫黄酸化を担い、エネルギー獲得に重要な働きをすることが初めて示唆された。遺伝子破壊株を用いたトランスクリプトーム解析では、本菌が有する呼吸関連遺伝子であるヒドロゲナーゼと **Hdr** との機能的関連が示唆された。他の呼吸関連遺伝子においては特定のシトクロム *c* オキシダーゼの転写量減少が見られたことから、本菌の遺伝子破壊株では酸化還元バランスの変動によってエネルギーをより効率的に利用する代謝にシフトしていることが示唆された。また、*hdrA* 破壊株で大きく転写量が減少したヒドロゲナーゼの遺伝子クラスター中には、**Hdr** 活性を有する遺伝子が存在したことから、**Hdr** 複合体とヒドロゲナーゼ複合体が協働する可能性が示唆された。

第一章第二節では **Hdr** 遺伝子が含まれる遺伝子クラスター中の機能未知遺伝子について解析が行われた。この遺伝子クラスター中にはグリシン開裂経路中で働く *gcvH* 遺伝子ホモログが良く保存されている。一方で本菌ではグリシン開裂経路の活性は報告されていない。そこで、本菌に存在する2つの *GcvH* が **Hdr** のリアクションパートナーとして機能すると仮説を立て、*gcvH*

を異種発現し、Hdr との相互作用解析が試みられた。

第二章では、硫黄の酸化によって生じる主要な中間産物である亜硫酸の酸化を担う酵素について研究が行われた。本研究ではまず系統解析が行われ、本菌の SreABC が近年発見された細胞質型亜硫酸酸化酵素と系統的に近い関係にあることが示された。SreABC の活性サブユニットをコードする *sreA* の遺伝子破壊株の表現型観察により、本遺伝子産物が *in vivo* において亜硫酸酸化酵素として機能することが示唆された。その後、本酵素の活性測定系の確立が試みられた。加えて、本菌のペリプラズムに局在が予想された亜硫酸酸化酵素の活性測定も行われ、本菌においては亜硫酸の局在によって酵素が使い分けられている可能性が示唆された。

第三章では本菌がチオ硫酸条件で生育する際に生成する硫黄粒子について解析が行われた。スクロース溶液中を通すことで菌体と硫黄粒子を分離し、ゼータサイザーによって硫黄粒子の粒子径が測定された。また、硫黄粒子画分中から特有のタンパク質 HTH_0586 を同定した。HTH_0586 は既知の硫黄粒子結合タンパク質と相同性を持たないことから、新規機能タンパク質であることが示された。HTH_0586 の一次配列情報から、その局在と機能が予想された。

以上本研究は微生物にとって重要な電子源の一つであるチオ硫酸の代謝を、*H. thermophilus* を研究対象として、チオ硫酸酸化経路の解明、新規機能タンパク質の発見により明らかにしたものである。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。