

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 芳 賀 恒 基

バクテリアは、生息環境における栄養源や浸透圧、あるいは熱やpH等の変化に迅速に応答して細胞機能を保護するためのさまざまな機構を発達させている。耐熱性の内生孢子を形成する枯草菌 (*Bacillus subtilis* 168株)における細胞のストレス応答機構の研究は、近年におけるゲノム解析の進展に伴い、急速な進展を見せている。

本論文は日欧共同プロジェクトの一環として枯草菌ゲノム解析計画に参画し、担当領域における塩基配列の決定と遺伝子破壊株作成によって機能解析を行った結果を述べるとともに、得られたゲノム情報を背景とした枯草菌におけるストレス応答の分子機序の解析を行った結果を述べたものであり、本文5章及び序章と総合討論よりなる。

序章で枯草菌ゲノムプロジェクトの概略と意義、枯草菌におけるストレス応答に関する分子遺伝学的研究の現状について総括した後、第一章では枯草菌の360°マップ上の19°~23°にわたる分担領域45kbの塩基配列の決定について述べている。本領域には45個のオープンリーディングフレーム (orf) が同定され、平均1kbに1個の遺伝子が存在することが明らかとなった。当該領域で確認されたorfの約半数が機能未知と判定されたが、この割合は枯草菌全ゲノムにおける機能未知遺伝子の出現割合とほぼ同じであった。当該領域における既知機能の遺伝子としては、転写調節因子やトランスポーターの遺伝子の存在が明らかとなった。

第二章では、塩基配列を決定した領域45kbとその上流100kbを合わせた約150kbの領域(研究室担当領域全体)上に存在する機能未知の遺伝子43個と別の研究グループより選択された48個、計91個の遺伝子について、相同組換えを利用した破壊株を作成し、表現型と遺伝子の発現解析を行った結果を述べている。その結果、生育に必須な遺伝子、対数増殖期や定常期への移行期に特異的な発現を行う遺伝子群の存在が明らかにされた。

第三章では酵母two-hybridスクリーニング系を用いて、熱ショックシャペロンの中でも比較的研究の進んでいるDnaK/DnaJ (Hsp70/40) 分子シャペロンと相互作用を行う遺伝子産物を探索した結果を述べている。フランスINRA研究所によって作成された遺伝子ライブラリーについてスクリーニングを行って得られたクローンを解析した結果、DnaJ蛋白質間の多量体形成にC末端領域が関与することが示された。また、DnaJと相互作用する蛋白質としてストレス $\sigma$ 因子SigBが同定された。この相互作用にはDnaJ蛋白質のN-末端近傍のGly/Phe-richな領域が関与することが明らかにされた。

第四章では、two-hybridスクリーニングのための新たな枯草菌ゲノムライブラリーの構築を行い、そ

の有効性を検討した結果について述べている。

第五章は、SigB 依存的なストレス応答（クラスⅡ）における DnaK/J 分子シャペロンの役割について解析を行った結果について述べている。枯草菌におけるストレス応答は、DnaK/J 系統（クラスⅠ）、SigB 系統（クラスⅡ）など 4 系統の制御機構があると考えられているが、*dnaK* または *dnaJ* 欠損株を用いて、SigB 応答系（レギュロン）への影響について調べた結果、SigB レギュロンは、従来から知られている経路とは別の DnaK/DnaJ の関与した経路によっても誘導されるという新知見を得た。

終章は総合討論にあてられている。

以上要するに本論文は、枯草菌におけるゲノム計画の一翼を担って塩基配列の決定と機能解析を行ったことを述べるとともに、DnaK/DnaJ 分子シャペロンと SigB レギュロンとの関係を明らかにしたものであり、学術上・応用上貢献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。