

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 高 木 善 弘

好アルカリ性細菌 *Bacillus halodurans* C-125株は、アルカリ環境下で良好に生育する。本菌株のアルカリ性環境適応機構の研究は、これまで個々の遺伝子に注目し進められてきた。しかし、多くの遺伝子が複雑に関与して制御されている適応機構を解明するには、これまでの方法論の積み重ねだけでは困難である。本論文は、好アルカリ性に関与している遺伝子群を網羅的に解明するため、*B. halodurans* C-125株の全塩基配列を明らかにし、近縁種である枯草菌との比較によって論じている。

第1章において研究の背景と意義を概説した後、第2章において *Bacillus* sp. C-125株 (C-125株) の系統分類学的な位置について述べている。DNA-DNAハイブリダイゼーションと16S rDNAの塩基配列に基づいた系統解析により、本菌株を *Bacillus halodurans*と同定した。

第3章においてC-125株の物理地図について述べている。制限酵素 *AscI* 及び *Sse8387I*により切断されたDNA断片のサイズより、本菌株のゲノムサイズを4.25 Mbと推定した。さらに、リンキングクローンをを用いて物理地図を構築した。

第4章においてはC-125株と *B. subtilis* 168株 (枯草菌) 間の部分的な遺伝子構成について述べている。C-125株の複製開始起点 (*oriC*) 領域の遺伝子構成は枯草菌と同一であった。また、本菌株の *dnaA* 遺伝子の周辺非コード領域において、DnaA蛋白質が結合するDnaA box (TTAT(C/A)CACA) の繰り返し構造を見出した。以上の結果より、両菌株の複製開始起点領域が類似しており、共通な機構で複製が制御されていることを示唆した。また、主要リボソーム蛋白質遺伝子クラスターの遺伝子構成が両菌株間で同一であることを示した。一方、任意に選択した入ファージクローンの遺伝子解析により、C-125株と枯草菌間において、遺伝子のゲノム上での配置が大きく異なることを示した。

第5章においては、ホールゲノムショットガン法によるC-125株ゲノムの全塩基配列決定について述べている。本菌株のゲノムは4,202,353塩基対から構成され、GC含量は43.7%であることを示した。また、101塩基対から1915塩基対の範囲で16種類の反復配列がゲノム上の108ヶ所に分布することを見出した。

第6章においてはC-125株の全塩基配列からの遺伝子領域の確定と、その遺伝子のアノテーションについて述べている。本菌株の全ゲノムから4066個の遺伝子を同定し、その遺伝子領域がゲノム全体の85%を占めることを示した。全遺伝子のうち2141個 (52.7%) が機能推定可能遺伝子、1182個 (29.1%) が機能未知遺伝子であることを示した。残り743個の遺伝子が他の生物種の遺伝子と類似性を示さない、本菌固有な遺伝子であることを見出した。RNA遺伝子として、8個のrRNA遺伝子オペロンと78個のtRNA遺伝子を見出した。C-125株の大きな特徴として、27種類のtransposase遺伝子が112

個存在することを見出した。

第7章においてはC-125株のゲノム構造や遺伝子構造について、近縁種である枯草菌との比較を通して述べている。本菌株の全遺伝子のうち7割近い遺伝子が枯草菌に相同遺伝子が存在することを明らかにした。これら遺伝子には、複製、蛋白質合成、炭水化物代謝、脂質代謝、アミノ酸代謝等の増殖に必要な遺伝子を含むことを示した。また、両菌株のゲノム全体を比較することにより、112°-153°領域と212°-240°領域が *terC* を中心にして逆位していることを示唆した。

また、C-125株と枯草菌の遺伝子のクラスタリング解析を行った。その結果、環境シグナルやストレスに応答して発現するECFファミリーに属するシグマ因子やオリゴペプチドを基質とするABCトランスポーターにおいて、C-125株に特異的な遺伝子が存在することを見出した。

アルカリ性適応機構に関与するNa⁺/H⁺対向輸送体遺伝子やATP合成酵素遺伝子には枯草菌との違いは見出せず、一方、エネルギー生成に関与する末端酸化酵素cytochrome-*c* oxidaseやcytochrome-*bd* oxidaseは、C-125株に特異的な遺伝子であることを示した。また、本菌株の細胞壁に多く含まれるテイクロノペプチドの合成に関与する*tupA*遺伝子が他の生物種には存在しない本菌固有の遺伝子であった。

以上、本論文は、好アルカリ性細菌 *B. halodurans* C-125株の全遺伝子を明らかにし、枯草菌との比較を通して、好アルカリ性細菌に特異的な遺伝子を明らかにしたもので、学術上・応用上貢献することが少なくない。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。