

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小 川 直 人

芳香族塩素化合物による環境汚染の修復技術として期待されているバイオレメディエーション技術の発展のためには、微生物の汚染物質分解機構の解明が必要不可欠である。ところが、芳香族塩素化合物の好氣的分解において中心的な役割を果たすクロロカテコール分解経路の遺伝子群については、その再編成や伝播の機構に関しては、伝達性プラスミドによること以外は全く明らかにされておらず、またその発現調節機構に関しては研究例がごく少なく、近年、端緒についたばかりであった。本研究では、クロロカテコール分解遺伝子群及び関連する2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)分解遺伝子群について以上の点を解明することを目的として、PCBの分解中間産物である3-クロロ安息香酸の分解菌 *Ralstonia eutropha* NH9株のクロロカテコール分解遺伝子群、及び農業として使われた2,4-D分解菌 *Alcaligenes* sp. CSV90株の分解遺伝子群の構造と発現調節機構の解析を行ったもので3部から構成されている。

環境汚染化学物質の除去技術開発の必要性とバイオレメディエーションの優位性及び、そのための微生物の化学物質分解遺伝子群の研究の意義と実験方法を述べた序論につづいて、第1部では、クロロカテコール分解を担う新規トランスポゾン Tn5707の発見と、Tn5707がNH9株の3-クロロ安息香酸分解経路の形成に果たしている役割を述べている。また、分解遺伝子群の欠失・重複が起こることを発見して、これらがTn5707の両端のIS1600を介した相同組み換えによることを明確に記述しており、挿入配列が転移能以外でも細菌の遺伝子群の再編成に寄与していることを、クロロカテコール分解遺伝子群では初めて明らかにしている。そしてTn5707を構成する挿入配列や分解遺伝子群を他の類縁のものと比較し、その位置付けを行うことにより、*cbnR-ABCD*分解遺伝子群の水平伝達が、分解遺伝子群の進化史上ごく最近起こったことを明らかにした。

第2部では、*cbnR-ABCD*分解遺伝子群の発現調節機構について、CbnRが*cbnA*プロモーター活性の発現を正に調節すること、また、*cis,cis*- μ コン酸及び2-クロロ-*cis,cis*- μ コン酸が*cbnA*プロモーターの発現誘導物質であることを見いだしている。さらにCbnRが*cbnA*の転写開始点の上流域にLysR familyの調節系に特徴的な結合をすること、及び*cbnA* promoter領域がCbnRの結合によりBendingを起こし、誘導物質の添加によりこの角度が弛緩することなどを明らかにしている。これらのうちいくつかのことは、ほぼ同一の配列を持つクロロカテコール分解遺伝子群 *tcbR-CDEF*の研究では発見されておらず、適切な実験系の使用や、実験条件の検討により、本研究で初めて達成された。また、*cbnR-ABCD*分解遺伝子群の発現調節機構を、類縁のカテコール分解遺伝子群 *catR-BCA*及びクロロカテコール分解遺伝子群 *clcR-ABDE*と比較することによって、これら3遺伝子群で転写活性化の基本的な機構が

保存されている部分もある一方で、誘導物質の違いがあることから、調節因子の誘導物質認識部位の進化が、転写活性化の機構の進化とは独立に起こり得ると考察している。

第3部では、*Alcaligenes* sp. CSV90株の2,4-D分解遺伝子群の構造を解析し、*R. eutropha* JMP134株の2,4-D分解遺伝子群の構造と比較して、前者が後者からの組み換えによって生じたと考察している。上記のTn5707に関する結果とともに、これらは芳香族塩素化合物分解遺伝子群の伝播や再編成を考えていくための具体的な知見であるとしている。また、CSV90株の*tfdCDEF(-B)*、*tfdA*分解遺伝子群の発現調節機構について検討しており、調節因子TfdSが2-クロロ-*cis,cis*-ムコン酸の存在下でこれら分解遺伝子群の発現を活性化することを示し、CSV90株の2,4-D分解遺伝子群全体の発現調節を定量的に明らかにした。そしてCbnRの結果などと合わせて、今までまったく研究されていなかった、(クロロ)安息香酸及び(クロロ)カテコール分解遺伝子群の発現誘導物質の多様性(スペクトル)について、LysR調節タンパク質の系統分類との関係から検討を加え、今後の詳細な解析に展望を与えることができたとしている。

以上を要するに本論文は、クロロカテコール分解遺伝子群および関連の2,4-Dジクロロフェノキシ酢酸分解遺伝子群の構造を明らかにし、発現調節機能の解析を行ったもので、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。