

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 羽 部 浩

本研究は、細菌におけるダイオキシン類の分解代謝に関与する酵素遺伝子群やその周辺領域の解析を目的とし、ジベンゾフラン（DF）資化菌 *Terrabacter* sp. DBF63 株、カルバゾール（CAR）資化菌 *Pseudomonas* sp. CA10 株、クメン資化菌 *P. fluorescens* IP01 株の3種類の細菌から、それぞれ DF、CAR、クメン分解代謝系遺伝子群およびその周辺領域を取得し、遺伝子構造解析および機能解析を行うとともに、これらが塩素化ダイオキシン類に対する分解能を有していることを明らかにしたものであり、全4章からなる。

第1章の序論に引き続き、第2章では DBF63 株から PCR 法を用いて DF 代謝に関与する初発酸化酵素 dibenzofuran 4,4a-dioxygenase (DFDO) の oxygenase component をコードする遺伝子 (*dbfA1A2*) を取得し、既知の angular dioxygenase の oxygenase component とは分子系統樹上異なるグループに属する新規な angular dioxygenase であることを示した。また、本研究によりグラム陽性細菌から世界で初めて単離された DFDO が、ジベンゾパラダイオキシンだけでなく、数種類の1～3塩素化ダイオキシンも分解可能であることを明らかにした。

第3章においては、CA10 株において既に明らかとなっている *carAaAaBaBbCAc(ORF7)Ad* 遺伝子群の周辺領域約 44 kb について塩基配列を決定し、*carAd* 遺伝子の直下流に CAR の中間代謝物である 2-hydroxypenta-2,4-dienoic acid の代謝に関与する酵素遺伝子群 (*carDFE*) が、*carAa* 遺伝子の約 21 kb 上流にアントラニル酸からカテコールへの代謝に関与する酵素遺伝子群 (*antABC*) が存在していることを示した。また、*car* および *ant* 遺伝子群がプラスミド pCAR1 上に局在しているのに対し、カテコールの代謝に関与する酵素遺伝子群 (*catRBCA*) が CA10 株の chromosome 上に存在していることも明らかにした。さらに、*car* および *ant* 遺伝子群の周辺領域に互いに相同性の高い4つの挿入配列 IS5*car1*～IS5*car4* を同定し、それらを詳細に解析したところ、IS5*car2* と IS5*car3* に挟まれた *antABC* 遺伝子群が複合トランスポゾンとして転移を起こした可能性や、IS5*car2* が直下流に存在する *antA* 遺伝子の 5'末端領域を伴って one-ended transposition を起こした可能性、IS5*car1* のすぐ上流に存在する ORF11 と ORF12 の周辺領域で遺伝子の重複が起こった可能性等が示唆されるなど、*car* および *ant* 遺伝子群が現在のユニークな遺伝子構造を形成するに至った遺伝子再構成の痕跡も数多く示した。

第4章においては、クメン資化菌 IP01 株からインジゴ生成を指標としたショットガンクローニングを行い、クメンから相当するメタ開裂物質までの分解に関与する酵素遺伝子群 (*cumA1A2A3A4BC*) を取得するとともに、これら酵素により塩素化ビフェニルもメタ開裂物質へと分解されることを示した。また *cum* 遺伝子群が、*P. putida* F1 株のトルエン分解系 *tod* 遺伝子群や *Burkholderia cepacia* LB400 株のビフェニル分解系 *bph* 遺伝子群と相同性が高いだけでなく、遺伝子構造も非常に類似しており、進化的な関連性があることを明らかにした。

以上、本論文は、3種の細菌 *Terrabacter* sp. DBF63 株、*Pseudomonas* sp. CA10 株、*P. fluorescens* IP01 株から、ダイオキシン類分解に関与する新規酵素遺伝子群やその周辺領域を取得し、遺伝子構造および機能を明らかにするとともに、CA10 株の *car* 遺伝子群の周辺領域に存在した複数の IS の解析から、ダイオキシン分解系遺伝子群周辺領域で起こったと考えられる遺伝子構造の再構成の過程を考察する等、ダイオキシン分解系酵素及びその遺伝子構造に関する新知見を与えたものとして学術上、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判断した。