

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 遠藤 隆主

地球規模での硫黄循環に中心的な役割を果たしていると考えられているジメチルスルフィド (DMS) を炭素源、エネルギー源、または硫黄源として利用する多様な細菌種が報告されているが、それらの DMS 代謝メカニズムはこれまでに明らかにされていない。申請者は、DMS 資化菌の DMS 代謝メカニズムを遺伝子レベルで明らかにすることを目的として博士論文研究を行い、DMS 資化菌 *Pseudomonas putida* DS1 株を単離し、その DMS 代謝経路、DMS 代謝に関与する遺伝子、そしてその転写制御メカニズムについて明らかにしたものである。

申請者は、土壌サンプルから DMS を唯一の硫黄源として利用する DS1 株を単離し、細菌学的諸性質や 16S DNA 部分塩基配列の結果から、DS1 株を *P. putida* と同定した。DS1 株は DMS をジメチルスルホキシド (DMSO)、ジメチルスルホン (DMSO<sub>2</sub>) へ酸化することを示し、また、この酸化が硫酸イオンの存在下で抑制されることを見出した。この結果から、DS1 株が DMS を酸化的脱硫経路で資化し、DMS 代謝に硫酸飢餓条件下で誘導される DMS 酸化酵素が関与することを明らかにしている。また、トランスポゾン変異導入法によって DMS の資化能を欠失した変異株 5 株を単離し、DMS 代謝に関与する遺伝子として *ssuEADCBF* 遺伝子群、*sfnECR* 遺伝子群、*cysM* を同定することに成功している。

申請者は、さらに分子遺伝学的、生化学的手法によって *ssu* 遺伝子群の DMS 代謝における役割を明らかにしている。還元型 FMN 依存性の酸化酵素をコードする *ssuD* の破壊株を作製し、*ssuD* が DMS、DMSO、DMSO<sub>2</sub> そしてメタンサルホン酸 (MSA) の資化に必須であること、*SsuD* が MSA の脱サルホン化活性を示し、*ssuD* 遺伝子産物が DMS 代謝中間体として生じた MSA の脱サルホン化に必須の酵素であることを明

らかにした。この結果から、DS1株においてDMSはDMS→DMSO→DMSO<sub>2</sub>→MSA→亜硫酸イオンの順に代謝されることを示した。また、ABC-type transporterの膜コンポーネントをコードする*ssuC*および機能未知のタンパク質をコードする*ssuF*の破壊株がDMSを利用できないことを示し、これら遺伝子産物がDMS代謝に重要な役割を果たしていることも明らかにした。

*sfnR* 遺伝子産物は、既知のNtrC-typeの $\sigma^{54}$ 因子依存性の転写制御因子と構造的類似性を示すが、N末端のphospho-reciever domainを欠いた新規な転写制御因子であることを見出した。*sfnR*の相補実験や $\sigma^{54}$ 因子の破壊株の表現型から、*sfnR*遺伝子がDMSO<sub>2</sub>の資化に必須な遺伝子の転写を正に調節することを示した。これは $\sigma^{54}$ 因子および $\sigma^{54}$ 因子依存性の転写制御因子が硫黄代謝に関与することを示した世界で初めての報告例である。また、*sfnECR*遺伝子群の転写が硫酸飢餓条件でLysR-typeの転写制御因子CysBによって正に調節されることを示し、DMSO<sub>2</sub>代謝酵素遺伝子の発現制御モデルを提案している。

以上、申請者の博士論文は、DMS資化菌*P. putida* DS1株のDMS代謝経路を決定し、DMSとMSAの代謝に*ssuEADCBF*遺伝子群が関与すること、DMSO<sub>2</sub>の代謝に新規な $\sigma^{54}$ 因子依存性の転写制御因子SfnRが関与すること、DMSO<sub>2</sub>代謝酵素遺伝子の発現制御モデルを提案するなど、DMS代謝だけでなく微生物の有機硫黄代謝に関して新たな知見を与えたものとして学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、申請者の論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと判断した。