

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 豊田 晃一

カルビン回路は炭酸固定回路の一つであり、地球の炭素循環に深く関与している。この回路の鍵酵素の一つであるribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO)はCO₂を有機炭素に変換する炭酸固定反応を触媒する。*Hydrogenovibrio marinus* MH-110株は海水から単離された絶対独立栄養性水素細菌であり、カルビン回路を用いて炭酸固定を行っている。この細菌は3種類のRubisCO (CbbLS-1、CbbLS-2、CbbM)を有しており、これまでに、各RubisCO遺伝子クラスターがクローニングされ、組換えRubisCOを用いて酵素の諸性質が調べられてきた。また、培養時に通気するCO₂濃度によって3種類のRubisCOの発現が変化すると同時に、carboxysomeと呼ばれる細胞内小胞が形成されることも示された。このように、MH-110株は周囲のCO₂濃度に応じてRubisCOやCO₂濃縮機構の発現を制御することで、広範囲のCO₂濃度に適応してきたと考えられる。このようなCO₂濃度応答性を示す遺伝子発現制御機構は、RubisCOを有する細菌に共通してみられるもので大変興味深い。本研究ではMH-110株における遺伝子操作系を構築し、各RubisCOの生体内での機能を調べるとともに、その発現調節機構を解明することにより、MH-110株のCO₂応答機構に関する知見を深めることを目的として研究を行った。2章ではtransconjugation法を応用して、*H. marinus*における遺伝子破壊法を開発し、RubisCOをコードする*cbbLS-1*、*cbbLS-2*、*cbbM*各遺伝子の破壊株を構築した。その結果、高CO₂濃度(≥2%)においてはCbbMが生育に必要で、低CO₂濃度(≤0.15%)においてはCbbLS-2ならびにcarboxysomeが必須であることが示された。CbbLS-1は、どのCO₂濃度においても生育に必須ではなく、他のRubisCOの機能を補助していることが考えられる。

3章ではMH-110株の3種のRubisCOの発現制御機構の解析を行った。各RubisCO遺伝子周辺領域のクローニング及びシーケンシングにより、転写制御因子がRubisCO遺伝子の近傍にコードされていることが分かった。各転写制御因子遺伝子の破壊株を構築することで、それぞれのRubisCOの発現が、3種類の転写制御因子によって独立して正に制御されていることが示された。

4章ではRubisCO遺伝子の下流に見いだされた炭酸脱水素酵素、カーボニックアンヒドラーゼ(CA)の機能について調べた。CAは活性中心に亜鉛を含む金属酵素で、CO₂の可逆的水和反応を触媒し、多くの微生物で生育に必須である。組換えタンパク質として精製したタンパク質に、CA活性が認められた。また、このCAは高CO₂濃度においては発現するが、低CO₂濃度においては発現が抑えられていることが示された。CA遺伝子の破壊株を構築した結果、CAは1-2%のCO₂濃度では生育に必須であるが、より高いCO₂濃度もしくは大気レベルの低CO₂濃度においては必須ではなかった。以上の結果から、絶

対独立栄養性細菌*H. marinus* MH-110 株はCO₂濃度に応じて3種類のRubisCOおよび、CAとcarboxysomeを発現制御することで、CO₂濃度に適したCO₂の濃縮ならびに炭酸固定を行っていることが示された。

以上の本論文で得られた知見は学術上ならびに応用上貢献するところ大である。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。