

## 論文審査の結果の要旨

氏名 小川 拓郎

緑色硫黄細菌は 1 種類の光化学系のみを持ち、チオ硫酸や硫化水素を光合成の電子供与体としている。緑色硫黄細菌における無機硫黄化合物、特にチオ硫酸の酸化過程に関する生化学的な理解は進んでいなかった。この酸化過程に関与する因子の同定と酸化機構に興味を持って申請者は、ゲノム解読が完了している *Chlorobaculum tepidum* を用いて生化学的な研究を行ってきた。チオ硫酸の酸化と光化学系への電子供与の研究を *sox* クラスターに存在する遺伝子産物に注目して開始し一連の研究で新知見を加えることができた。

### 【第一章 緑色硫黄細菌における新奇のチオ硫酸酸化因子 SoxK の機能に関する研究】

申請者は組換え蛋白質 rSoxA、rSoxX、rSoxK を用いて解析を行い、まず、rSoxA、rSoxX、rSoxK を等モル SoxB と SoxYZ を含む反応液に加えると、*C. tepidum* の細胞から単離した SoxAXK を加えた場合とほぼ同程度の反応速度が得られることを確認した。rSoxA と rSoxX の 2 成分を加えた場合、同濃度の SoxAXK と比較して 1/30 程度の活性が見られた。これに rSoxK を徐々に加えていくと、およそ rSoxA、rSoxX と等モルになるまで反応速度は上昇した。rSoxA または rSoxX の濃度を変化させると、反応速度が一方の濃度に依存したレベルで飽和することから、rSoxA と rSoxX は溶液内でゆるく会合している可能性が推測された。rSoxA、rSoxX、rSoxK を様々な組み合わせで混合し、ゲル濾過クロマトグラフィーを行ったところ、rSoxK と rSoxA を混合したときに保持時間が短くなり、これに rSoxX を加えた 3 成分混合の場合は、SoxAXK と同じ保持時間となり、いずれも複合体形成を肯定する結果を得た。

SoxK を持たない紅色硫黄細菌 *Rhodovulum sulfidophilum* では SoxAX の結晶構造が解かれており、SoxAX の複合体形成に SoxX に存在する 10 数残基からなる領域が特に重要であることが示されている。*C. tepidum* の SoxX はこれに相当する領域を欠いており、SoxK は、上記の SoxX で欠損している領域を補い安定した複合体形成に関与する可能性を示した。

### 【第二章 チオ硫酸酸化促進効果を持つ SoxJ の機能に関する研究】

SoxJ は単独ではチオ硫酸を酸化できないが、SoxAXK、SoxYZ、SoxB からなる Sox 酵素系に SoxJ を加えるとチオ硫酸酸化は促進された。電子受容体として *C. tepidum* 由来の *cyt c-554* を用いると、最大活性は SoxJ の添加により約 2 倍に上昇したが、ウマ心臓 *cyt c* では最大活性の上昇は 1.3 倍程度に留まった。SoxAXK、SoxB、SoxYZ の濃度を成分ごとに変化させて、SoxJ の添加効果を調べると SoxB と SoxYZ の濃度が低いほど、SoxJ の促進作用は高まった。一方、Sox 酵素系による亜硫酸の酸化は、逆に SoxJ により阻害され、非競合阻害型を示した。硫化水素に対しては、SoxJ は単独でこれを酸化することができ、電子受容体 *cyt c* を還元するが、*cyt c-554* と馬心臓 *cyt c* では前者に対する活性がおおよそ 50 倍高かった。Sox 酵素系は SoxJ なしでも硫化水素を酸化できるが、SoxJ 単独の場合と比較して、最大活性は 1/6 程度であった。Sox 酵素系に、SoxJ を添加しても、SoxJ 単独の場合と最大活性は変わらず、活性に相乗効果は見られなかった。Sox 酵素系は、単独でチオ硫酸 1 分子あたり 2 分子の *cyt c* を還元するが、SoxJ の添加によって獲得電子数に変化は見られなかった。また、酸化産物として硫酸

1 分子と元素硫黄を生じていることが示唆された。

これらの結果から SoxJ は Sox 酵素系の成分と結合することにより間接的に反応速度を高める可能性のほかに、反応経路の途中から電子を受け取り、付加的経路で直接 cyt c-554 に電子を渡す可能性を示した。また、亜硫酸酸化時に阻害的に作用するのは、亜硫酸酸化時の反応中間体から電子を受け取れないこと、SoxYZ または SoxB もしくは両者と相互作用することにより反応速度に影響している可能性も提案した。

以上のように、無機硫黄化合物の酸化過程に関与する蛋白質因子、特に SoxK と SoxJ の機能について、申請者は新知見を得て、*C. tepidum* における光合成電子供与体側の電子伝達鎖の理解を進めた。

なお、本論文第 1 章は、古澤利成、野村怜平、瀬尾悌介、松田直美、櫻井英博、井上和仁との共同研究として発表済みであるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。