

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 亀谷 将史

本論文で研究材料とした菌 *Hydrogenobacter thermophilus* は進化系統上もっとも古くに分岐したバクテリアの一種と推定され、生命の起源を考える上で重要な研究対象である。また本菌は、水素を唯一のエネルギー源、二酸化炭素を唯一の炭素源とするなど、生育能に関しても特異な性質を多く有している。これらの背景から本菌の代謝系に関してはこれまで精力的に研究が行われ、数多くの新規な性質が見つかった。特に本菌の炭素同化代謝においては、還元的 TCA 回路という特徴的な代謝経路を有することが明らかとなっている。

このような炭素同化代謝に関する研究の進展に対し、同様に主要な生体元素である窒素の同化代謝に関しては、申請者以前にはまったく本菌で研究がなされていなかった。本論文では、本菌における窒素同化代謝の解明を目的として研究が行われた。

本論文の第 1 章では、まず本菌の窒素源の一つであるアンモニアの取り込み経路を同定した。各種酵素活性の測定により、GS-GOGAT 経路と呼ばれる代謝がアンモニア同化経路として機能していることが示された。この代謝経路は glutamine synthetase (GS) と glutamate synthase (GOGAT) の共役反応であり、多くの生物に分布する代謝系である。本菌の GOGAT は一般的なバクテリア由来酵素と異なり、フェレドキシンを用いるという特殊な性質を有することが示唆された。そこで本経路を触媒する 2 つの酵素について次章以降で詳細な解析を行った。

第 2 章では GS の精製、酵素学的解析を行った。GS に関しては、本菌でも既知の酵素に近いものが保存されていることが示された。また一部のバクテリアに見られる制御機構を本菌も有していることも明らかとし、この制御機構が進化系統上バクテリアの古くから存在することが支持された。

第 3 章では GOGAT の精製、酵素学的解析を行った。GOGAT は電子供与体の種類により分類され、フェレドキシンを用いるタイプが植物やシアノバクテリアのみで見つかり、その他のバクテリアには NADPH を用いるタイプしか知られていなかった。本菌から GOGAT の精製を行ったところ、フェレドキシン型の GOGAT が得られ、本酵素が非光合成生物にも存在することが初めて示された。本菌の GOGAT は既知のフェレドキシン型 GOGAT と共通な性質が多く見られた一方で、フェレドキシンに対する特異性や、有機酸による活性化を受けることなど、既知の酵素には報告例のない性質も複数見られた。特に後者に関しては、これらの有機酸が還元的 TCA 回路中の代謝物であることから、炭素同化代謝による窒素同化代謝の制御を示唆する興味深い性質だと言える。

第 4 章では、GS-GOGAT 経路により生成する Glu を窒素供与体として各種アミノ酸合成

を行う aminotransferase について研究を行った。本菌から 4 種類の aminotransferase 活性を検出し、Glu を基質として Asp、Ala、Gly の生合成が可能であることが示された。さらにこれらの活性の由来となる 3 種類の酵素の精製に成功し、その性質を明らかにした。このうち 2 つの酵素は既知の酵素とは異なる進化系統に属することが示され、酵素学的にも興味深い知見が得られたと言える。

第 5 章では、本菌のもう一つの窒素源である硝酸の同化に関して研究を行った。一般的な生物では硝酸は nitrate reductase (NAS) と nitrite reductase (NIR) の共役反応によりアンモニアへと変換され、同化される。これらの反応の電子供与体として、NADPH を用いる酵素が大腸菌などで報告されている一方、シアノバクテリアではフェレドキシンを用いる酵素のみが存在する。本菌から NAS の精製を行ったところ、フェレドキシン型 NAS の存在が示された。さらに、その遺伝子上流には NIR ホモログ遺伝子が存在し、異種発現によりその遺伝子産物がフェレドキシン型 NIR であることが強く示唆された。

以上のように、本研究では *H. thermophilus* の窒素同化経路を明らかにし、また酵素学的に新規な知見も複数得られている。さらに本菌の窒素同化代謝の特徴として、これまで植物やシアノバクテリア特異的に知られていたような、フェレドキシンの深い関与が示された。本菌の炭素同化代謝においてもフェレドキシンが必須な働きをしていることはすでに示されており、本菌の窒素・炭素両同化代謝の密接な関係を示す興味深い知見と言える。

本論文で得られた知見は他の生物種の窒素代謝、また本菌の代謝全体像の解明に大きく寄与することが期待される。よって審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位としてふさわしいと認めた。