

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 飯田 彩

酢酸菌はグラム陰性の好気性細菌で、エタノールや様々な糖を有機酸に酸化する能力を有している。この酸化反応は酸化発酵と呼ばれ、特にエタノールを酸化して酢酸にする反応は酢酸発酵と呼ばれる。酢酸菌の中でも、*Gluconacetobacter* 属と *Acetobacter* 属は、高いエタノール酸化能と酢酸耐性能を有することから、食酢の製造に広く利用されており、食酢製造を効率的に行うため、酢酸生産能の高い菌株の育種が望まれている。一方、近年、多くの微生物において、低分子シグナル物質を介して菌体密度を感知するクオラムセンシングシステムによって様々な遺伝子の発現が制御されていることが明らかになってきているが、酢酸菌のクオラムセンシングについてはほとんど解析が行われていなかった。このような背景のもと、本論文は食酢製造への応用を目標として、酢酸菌のクオラムセンシングに関して解析した研究について論じたものであり、三部からなる。

第一部では、クオラムセンシングシステムと酢酸菌についてこれまでの知見をまとめている。

第二部、第1章では、*Gluconacetobacter intermedius* NCI1051 が、3種類の AHL を生産し、GinI/GinR から成るクオラムセンシングシステムを有していることを示した。加えて、GinI/GinR クオラムセンシングシステムの標的遺伝子として、*ginI* のすぐ下流に位置し、89 アミノ酸の機能未知のタンパク質をコードする *ginA* を見出した。次に、*ginI* 破壊株、*ginR* 破壊株、*ginA* 破壊株では、酢酸とグルコン酸の生産量が野生株より増加することを示した。また、これらの破壊株の培養液では、食酢製造時に問題となる発泡が野生株と比較して顕著に減少することを示した。以上より、GinI/GinR クオラムセンシングシステムは GinA を介して、酢酸菌の特徴的な性質である酢酸発酵とグルコン酸発酵を含む酸化発酵および消泡活性を負に制御していることを明らかにした。この結果は、クオラムセンシングの酸化発酵への関与を示した初めての例であるが、酢酸菌のクオラムセンシングの制御が酢酸発酵と消泡活性の両面で食酢製造に応用可能なことを示した点でも重要である。

第二部、第2章では、GinI/GinR クオラムセンシングシステムの標的遺伝子をさらに同定し、GinI/GinR クオラムセンシングシステムによって、どのように酢酸発酵が制御されているのかを明らかにすることを目的として、二次元電気泳動によるプロテオーム解析を行った。その結果、GmpA と名づけた OmpA ファミリーのタンパク質が GinI/GinR クオラムセン

シングシステムに応答して生産されることを見出した。そして、転写解析によって、*gmpA* の転写が *GinA* を介して *GinI/GinR* クオラムセンシングシステムによって活性化されることを示した。次に、*gmpA* 破壊株を作製し、酢酸発酵への影響を調べた。その結果、*gmpA* 破壊株は、野生株に比べて酢酸の生産量が増加し、同時にグルコン酸の生産量も増加した。以上の結果から、*GinA* を介して活性化される *gmpA* は、クオラムセンシングシステムによる酸化発酵の抑制に関与していることが示された。

第二部、第3章では、*gmpA* 以外の *GinA* の標的遺伝子を同定し、クオラムセンシングシステムによる酢酸発酵の制御機構を明らかにすることを目的として、近縁種である *Gluconacetobacter polyoxogenes* の DNA マイクロアレイを使用したトランスクリプトーム解析を行った。その結果、*GinA* によって誘導される4つの遺伝子 (*gltA*、*pdeA*、*pdeB*、*nagA*) が同定された。遺伝子破壊により、酸化発酵と消泡活性への関与を調べた結果、これら4つの遺伝子のうち、*gltA* (putative glycosyltransferase) と *pdeA* (putative cyclic-di-GMP phosphodiesterase) は酢酸発酵とグルコン酸発酵を含む酸化発酵に負の影響を与えることが示された。更に、*gltA* は消泡活性にも負の影響を与えることが示された。このように第3章では、酸化発酵に関与する複数の遺伝子が *GinI/GinR* クオラムセンシングシステムの制御下にあることを明らかにしている。この発見は酸化発酵の条件に適応して進化した *G. intermedius* における *GinI/GinR* クオラムセンシングシステムの重要性を強く示唆するものである。

第三部では、研究を総括するとともに、今後の展望について論じている。

以上、本論文は酢酸発酵と密接に関与している、酢酸菌のクオラムセンシングシステムについての研究成果をまとめたものであり、学術上ならびに応用上貢献するところが少ない。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認めた。