

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 木村 真人

一般的に、紅色光合成細菌は低酸素下で光合成装置を発現し、嫌気環境下で光合成を行う嫌気性光合成細菌である。しかし、これらの中には高酸素下において、光合成装置を発現し、好気的環境下で光合成を行う好気性光合成細菌が存在する。近年、これら好気性光合成細菌が海洋表層微生物の優占種であり、グローバルな物質循環に寄与していることが明らかになって来た。環境変化に対応したエネルギー代謝の調節は、生存戦略上重要であり、好気性光合成細菌の環境優占化要因として、それらの持つエネルギー代謝系と調節機構に一因があると考えられる。しかし、好気性光合成細菌のエネルギー代謝に関する知見は乏しく、その調節機構に関しては未解明である。*Roseobacter denitrificans* OCh114は光合成、好気呼吸、脱窒という複数のエネルギー代謝を有しており、好気性光合成細菌のモデル生物として初めて全ゲノムが解読された。本研究では、好気性光合成細菌の優占化要因解明の一端として、OCh114の環境変化に伴うエネルギー代謝とその調節機構に関する基礎的知見を得る事を目的とした。

1 環境変化に伴う各エネルギー代謝関連遺伝子の発現パターンの解析

OCh114の環境変化に伴う各エネルギー代謝関連遺伝子の発現パターンを解析したところ、好気呼吸関連遺伝子は、*aa₃ cytochrome c oxidase (cco)* が恒常的に発現し、*cbb₃ cco* は低酸素で誘導され、*quinol oxidase (QO)* は常に発現レベルが低かった。光合成関連遺伝子は暗条件において恒常的に発現していた。一方、好気明条件では光合成関連遺伝子の発現が抑制されるが、酸素濃度の低下に伴い光による発現抑制が解除されていた。脱窒関連遺伝子は低酸素で誘導され、また好気条件下においても光により発現が誘導された。

2 遺伝子操作系の確立と*norCB*遺伝子の機能解析

好気性光合成細菌の遺伝子操作系は確立されていなかったため、OCh114における遺伝子操作系を確立し、機能未知遺伝子*norCB*遺伝子の破壊株を構築し、その機能を解析した。*norCB*破壊株は脱窒条件下で生育出来ず、一酸化窒素還元活性がなかったことから、OCh114の*norCB*は生体内でNO還元酵素として機能している事が示された。

3 脱窒の制御機構

OCh114における脱窒制御機構を明らかにするために、OCh114のゲノムから他の脱窒菌において脱窒制御に関わる転写調節因子ホモログを探索したところ、酸素センシングレギュレーターFnrL及び、NOセンシングレギュレーターDnrをコードする遺伝子が存在した。なお、Dnrホモログは2つ存在していた(Dnr1及びDnr2)。これらと脱窒との関係性を見るために、それぞれの遺伝子破壊株を構築し、機能を解析したところ、FnrL、Dnr1及びDnr2はそれぞれ脱窒生育に必須で

あることが示された。なお、Dnr2は脱窒酵素の亜硝酸還元酵素と一酸化窒素還元酵素の発現を制御しており、その*dnr2*遺伝子はDnr1に制御されていた。一方、FnrLは脱窒関連酵素である硝酸還元酵素の制御に関与することが示唆されたが、各*dnr*の発現には直接関与していないことが示唆された。しかし、FnrL破壊株では、DnrのNOセンシングに必要なheme合成系の発現レベルが低下しており、FnrLはheme合成を介して間接的にDnrの活性化に関与していることが示唆された。

4 呼吸及び光合成関連遺伝子の発現制御

FnrLホモログは他菌において、好気呼吸や光合成の制御にも関わっていることが知られている。また、好気性光合成細菌に特徴的な調節因子を探索したところ、光センシングに関わるLOV-domainを持つヒスチジンキナーゼ(LOV-HK)が見つかった。OCh114のFnrLとLOV-HKの機能を解析したところ、FnrLは光合成色素合成関連遺伝子の発現を制御していた。また、光合成装置の一部（集光装置1と反応中心）の遺伝子発現に必須ではないが関わっていることが示唆された。さらに、FnrLは好気呼吸素のうち *cbb₃* *cco* を正に制御し、*QO*を負に制御していることが示された。一方LOV-HKは、光合成色素及び光合成装置関連遺伝子それぞれの制御に関わっていた。ただし、このLOV-HKはDNA結合モチーフを持たないため、光合成関連遺伝子の発現に関わるレギュレーターへのシグナル伝達に関与していると考えられた。

以上、本研究は好気性光合成細菌の好気呼吸、脱窒、光合成時のエネルギー代謝の制御に関与する調節因子を同定し、その制御機構を明らかにしたものであり、学術上・応用上貢献するところが少なくない。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。