

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐藤 由也

多くの生物にとって最も重要な生命活動として呼吸が挙げられる。呼吸では酸素を水に還元することで効率的にエネルギーを獲得するが、それに伴い「活性酸素種」という有害な副産物が生じてしまう。活性酸素種は生体に深刻なダメージを与えるため、ほとんど全ての生物は活性酸素種からの防御酵素を装備している。一方、太古の地球には酸素はほとんど存在せず、当時の生物は酸素に非常に弱かったと考えられている。本研究では古い進化的起源を有する細菌、*Hydrogenobacter thermophilus* を研究対象に用いた。興味深いことに、本菌は進化的起源を色濃く残す「酸素に弱い代謝系」を持つにも関わらず、酸素存在下で旺盛に生育する。本研究ではこの矛盾に着目した。また、酸素からの利益の享受を担う「呼吸」と、危機からの保身を担う「防御系」は全く異質であるが、いずれも電子の供給に依存しており、電子なしでは機能しえない。このように電子の流れ、すなわちエネルギー代謝系は酸素と生物との関係に密接にリンクしており、本研究では *H. thermophilus* のエネルギー代謝を理解することで生物と酸素との関係を明らかにすることを目的に掲げた。

第一章では電子の獲得系の特徴づけがなされた。本菌は水素またはチオ硫酸を酸化することによって電子(還元力)を得ているが、水素酸化による生育の方が格段に速いことが分かった。しかし興味深いことに、チオ硫酸代謝酵素はチオ硫酸の有無に関わらず常に高い発現量を示した。反対に水素代謝酵素である hydrogenase は水素が無いと発現しなかった。チオ硫酸代謝系を構成的に利用することで高い生存率を維持し、環境に応じて水素酸化系の ON-OFF を切り替えていることが示唆された。すなわち本菌では、効率的なエネルギー獲得系より、低効率でも生存に有利なものが選択されているという結論を得た。

第二章では本菌の電子伝達体に着目した。本菌の中央代謝系では ferredoxin (Fd) という電子伝達タンパク質が電子供与体として活躍しており、これまでに炭素・窒素代謝系で新規の Fd 利用酵素が見つかった。そこでタンパク質間相互作用(PPI ; Protein-Protein Interaction)を指標に、Fd を利用する新規酵素の探索を行った。Fd とそのパートナーの PPI は非常に弱く、既存の手法では検出が非常に困難であった。そこで本研究ではそのような弱い PPI を検出する新規手法を開発した。開発した手法を用いた研究によって Fd が bacterioferritin comigratory protein (BCP) という酸化ストレス防御酵素に電子を供給することが示された。Fd が酸化ストレス防御に関与するという報告はなく、新規の電子ネットワークの可能性を示す重要な知見である。

第三章では電子が介する酸素と本菌との関係について、本菌の呼吸系および酸化ストレス防御機構について研究を行った。まず、系統解析の結果、本菌は新規の呼吸酵素を持つことが示唆された。また、本菌の持つ 4 種類の呼吸酵素は酸素濃度に応じた使い分けがされ

ていることが示唆され、本菌の様々な酸素濃度下での生育を支えていると考えられた。

酸化ストレス防御酵素としてはBCPに着目した。本菌BCPはperoxidaseとして働き、生体内では過酸化物質解毒に寄与することが示された。アミノ酸置換体の解析から、本菌BCPが新規の反応機構を有することが示唆された。

また本菌の近縁でありながら酸素感受性を示す細菌との比較ゲノム解析を行った結果、本菌の酸化ストレス防御系の中核を成すことが予期される酵素遺伝子を見出した。この遺伝子の破壊株は好氣的に生育することができず、この酵素が好気生育に必須であることが示された。この酵素を精製し解析したところ、過酸化物質還元(peroxidase)活性を示した。またこの酵素は他のホモログには見られない基質への広い反応性を示した。すなわち本酵素は新規の酸化ストレス防御酵素とされ、Ferriperoxin (Fpx)と命名した。この酵素は、他の多くの微生物が持つ防御酵素の祖先型に当たることが示唆された。

本菌の好気生育を支えている酵素は酸化ストレス防御酵素のみではなく、他の酵素も独自に酸素耐性型に進化し、細胞全体で酸素が存在する環境に適応していったと考えられる。その詳細の理解と、各防御酵素を統率する転写制御因子を理解することが、本菌と酸素との関係をより明らかにするために、今後より重要であると考えられる。

以上本研究は、生物学上最も重要なテーマのひとつである生物と酸素との関係を、*Hydrogenobacter thermophilus* を研究対象として新規の酸化ストレス防御酵素を発見、本酵素は酸素存在下で生育するために必要不可欠であること、さらには新しいタイプの呼吸酵素を発見することにより、明らかにしてきたもので、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。