

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ホネイン カリム サード

HONEIN KARIM SAAD 氏の提出論文 A holistic approach to the study of the biodegradation of lignocellulose in *Teredo navalis* using cDNA cloning, pyrosequencing and semiconductor sequencing (フナクイムシのリグノセルロース分解に関する分子生物学的研究) はフナクイムシのリグノセルロース分解に関わる酵素群を網羅的に検討したものである。その概要を以下に示す。

化石燃料の燃焼による大気 CO₂ レベルの上昇が地球温暖化の一要因として挙げられ、バイオエタノールなど再生可能なエネルギーへの転換が叫ばれて久しい。デンプンからのバイオエタノールの生産は比較的容易であるが、食糧資源との競合が大きな問題である。一方、リグノセルロースは地球上に存在する最も莫大な炭素資源であるが、その構造は非常に多様性に富むため、分解するためには特殊な酵素群が必要となる。フナクイムシ *Teredo navalis* は Teredinidae 科の二枚貝で、木質を摂取し、分解することで知られている。本研究では、*T. navalis* が有するリグノセルロース分解活性を有効利用するために、分解に関連する酵素群の遺伝子について網羅的に解析することとした。

まず、第 1 章では glycoside hydrolase family (GHF) 45 の遺伝子を Expressed Sequence Tag (EST) 解析から見出し、GHF45 遺伝子をクローニングした。演繹アミノ酸配列はシグナルペプチド 20 残基を含む 236 残基からなった。二枚貝 GHF45 をテンプレートとして 3 次元構造を構築して、活性中心の 2 つの Asp 残基 (Asp27 および Asp139) を同定した。次いで、Roche GS FLX 454 による *T. navalis* のトランスクリプトーム解析を行った。平均配列長 348bp の 165564 reads が得られ、アセンブルの

結果 12879 のコンティグと 891 のシングレットが得られた。アノテーションの結果、11 のセルロース分解酵素関連遺伝子、25 のヘミセルロース分解酵素関連遺伝子、4 の carbohydrate binding domains (CBD) 遺伝子、10 のラッケース遺伝子が見出された。分子系統解析の結果から、5 つの *T. navalis* GHF9 は細菌および二枚貝に分散し、4 つの配列はシロアリ共生菌のものと同じグループに属することが明らかとなった。

DNA 重合時に発生するプロトンを検出する IonPGM システムを用いて *T. navalis* のトランスクリプトーム解析を行ったところ、平均長 159.3 bp の 5161094 reads が得られ、CLC Genomics Workbench 4.6.1 によってアセンブルしたところ、平均長 252.9 bp、最大長 5495 塩基の 20090 のコンティグが得られた。BLASTx を用いてアノテーションを行ったところ、13433 個がアノテーションされた。その内訳は、cellulase に関する遺伝子断片が 73.3%、mannanase が 9.9%、glycosyl hydrolase が 9.7% を占めた。最尤法を用いて GHF9 の分子系統解析を行ったところ、Roche GS FLX 454 によるトランスクリプトーム解析の結果をほぼ支持した。

以上、フナクイムシの *T. navalis* における網羅的トランスクリプトーム解析によって、フナクイムシはリグノセルロース分解に関わる遺伝子群の一部を水平遺伝によってバクテリアから承継し、フナクイムシ自身ですべてのリグノセルロースの分解を可能とするように進化してきたとの仮説を提唱するに至った。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として必要十分な条件を満たす、価値あるものと判定した。