

| | |
|---------|--|
| 氏名 | 愛宕 祐基 |
| 授与した学位 | 博士 |
| 専攻分野の名称 | 工学 |
| 学位授与番号 | 博甲第5358号 |
| 学位授与の日付 | 平成28年 3月25日 |
| 学位授与の要件 | 自然科学研究科 化学生命工学専攻 (学位規則第5条第1項該当) |
| 学位論文の題目 | Analysis of novel extracellular protein for biphenyl metabolism in <i>Rhodococcus jostii</i> RHA1 (放線菌 RHA1 株のビフェニル資化における新規細胞外タンパク質の解析) |
| 論文審査委員 | 准教授 二見 淳一郎 教授 世良 貴史 教授 大槻 高史 |

学位論文内容の要旨

化学的に極めて安定な油状物資であるポリ塩化ビフェニル (PCB) は、かつて絶縁体をはじめ幅広く使用されていたが、毒性が高いため使用が禁止されている。しかし PCB は難分解性のため環境汚染物質として蓄積し問題となっている。この PCB を分解する微生物として注目される *Rhodococcus jostii* RHA1 株 (RHA1 株) は、二成分制御系 BphS1T1 が PCB/ビフェニルを感知して分解酵素遺伝子群を活性化することが知られている。本研究ではこの RHA1 株がビフェニル応答時に BphS1T1 依存的に活性化する遺伝子群を ChIP-chip 法を用いて網羅的に解析し、既知ビフェニル代謝酵素遺伝子群に含まれない 6 つの遺伝子を新規に同定した。次に各遺伝子の欠損株を作製し、ビフェニルを唯一炭素源とした生育能で評価を進めた結果、1 つの遺伝子 (*ro10225*) 破壊株のみが完全にビフェニル資化能を欠失した。この遺伝子産物の機能を解析するため、組換え Ro10225 タンパク質を大腸菌で発現・精製し、抗 Ro10225 ポリクローナル抗体を調製して解析を進めた結果、この Ro10225 タンパク質はビフェニルを唯一炭素源とした RHA1 株の菌体内および菌体外にも分泌していることが判明した。実際に、高濃度の組換え Ro10225 タンパク質をビフェニル培養中の *ro10225* 遺伝子破壊株に直接添加するとビフェニル生育能を回復することから、Ro10225 は細胞外タンパク質として機能していることが推定された。ビフェニル培養中の RHA1 株の細胞外に存在する Ro10225 タンパク質 (全長で 55kDa) は、主に 19kDa の限定分解産物として存在している。この培地上清中に存在する 19kDa の Ro10225 タンパク質を精製したところ、2 つのビフェニル初発水酸化酵素と複合体を形成していることが判明した。これらの複合体は低濃度でも *ro10225* 遺伝子破壊株のビフェニル生育能を回復させることから、RHA1 株のビフェニルの初期代謝に大きく関与している可能性が示唆された。今後、RHA1 株の *ro10225* を含む細胞外分泌酵素群の詳細な機能解析により、PCB/ビフェニル分解経路の全容解明が進むものと期待される。

論文審査結果の要旨

本学位論文では、環境汚染物質であるポリ塩化ビフェニル (PCB) やその類縁化合物のビフェニルに対して高い分解能力を持つ放線菌 *Rhodococcus jostii* RHA1 株を研究対象とし、ビフェニル代謝に必須な遺伝子の同定から機能解析までの一連の研究を完結している。ビフェニル代謝に必須の遺伝子群の絞り込みには、広範なゲノミクス手法を駆使して、最終的にビフェニル代謝に必須な 1 つの遺伝子 (ro10225) を突き止めた。この遺伝子産物の機能を解析するため、プロテオミクス手法を駆使して ro10225 タンパク質の限定分解断片が 2 種類のビフェニル代謝酵素と複合体を形成して細胞外に分泌されている新知見を得た。これらの成果は RHA1 株が効率的に疎水的な PCB やビフェニルを資化する能力を獲得した重要な特徴と考えられ、これまでほとんど解析されてこなかった細胞外分泌タンパク質の重要性を明示した。本研究成果は査読付きの 1 報の原著論文に第一著者としても受理されており、学位論文として相応しいものと判断した。