



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Genome analysis of the alginate degrading marine bacterium <i>Vibrio haliotocoli</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	高, 峰
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13099号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70166
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	GAO_FENG_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：高 峰

審査委員	主査 教授	尾島 孝男
	副査 教授	澤辺 智雄
	副査 助教	美野 さやか

学 位 論 文 題 目

Genome analysis of the alginate degrading marine bacterium *Vibrio halioticoli*
(*Vibrio halioticoli* のゲノム解析)

世界各国において化石代替燃料の開発が活発化してきており、海洋バイオマスの燃料変換技術の開発も注目されるようになってきている。特に、褐藻類で含有量の高いアルギン酸からのエタノール生産は大変難しい技術であるため、海洋細菌のアルギン酸代謝機構に関する知見の集積が待たれている。スフィンゴモナスや大腸菌に加え、近年、私たちの研究グループにより、アルギン酸分解能が高い *Vibrio halioticoli* を代謝改変し、初めてアルギン酸からエタノールを生産可能な海洋微生物触媒が開発された。しかし、その生産量の向上に向けて、本菌のアルギン酸代謝機構の分子レベルでの解明やより優れた新規生物触媒の発掘が必要である。そこで、本研究では、本菌の完全ゲノム解析とその生物情報解析に基づきアルギン酸代謝機構の解明を目的とした。特に評価される成果は以下の通りである。

1. *V. halioticoli* IMA 14596^Tの完全ゲノムの取得は、第三世代ゲノムシーケンサーPacBioの使用のみでは達成できず、第二世代シーケンサー454で得られた配列を個別につなぎ、Plasmid 様環状配列を再構築することではじめて達成することができた。約 2.8 Mb および 1.1 Mb の第一および第二染色体に加え、約 244 kb の大型 Plasmid 様配列を得た。複製開始点や複製装置の有無を解析し、それぞれ染色体および Plasmid として機能しうることを示唆した。さらに Plasmid に関しては、接合伝播に関与する遺伝子群に加え、第二染色体と同一の領域を持つことを見だし、これが組込み能を有する接合 Plasmid であることを示唆した。

2. 本菌ゲノム上に 3602 のタンパク質コード領域が存在し、炭水化物の 3 つの中央代謝系（エムデン-マイヤーホフ、ペントースリン酸およびエントナー-ドウドロフ経路）が再構成されることを示した。アルギン酸を含む少なくとも 4 種類の海藻糖質の代謝系をもつことも示唆した。この中で、デンプンとセロビオースは本菌が資化できないことから、代謝上流の遺伝子が機能していないことも示唆した。
3. 生物情報学的解析手法により、アルギン酸リアーゼ遺伝子の検索を行い、15 種類の遺伝子を候補として見いだした。さらに、タンパク質の共通構造に関する解析を行い、11 種類がより確からしいアルギン酸リアーゼ遺伝子であることを示した。さらに、*E. coli* 発現系を用いて、これら全ての遺伝子の発現解析を行い、9 種類の遺伝子産物がアルギン酸リアーゼとして機能しうることを明らかにした。アルギン酸リアーゼ活性を示さなかったタンパク質の中で、2 種類はオリゴ糖チャンネルを形成するタンパク質、2 種類は PL17 型アルギン酸リアーゼおよび 1 種類の PL6 型ペクチンリアーゼであった。
4. 海洋バイオ燃料生産に適する特徴をもつ新規な海洋微生物触媒として、石垣島サンゴ礁海域の海水から *V. ishigakensis* を分離し、新種の記載を行った。本菌は、*V. halioticoli* と同じクレードに属し、アルギン酸分解能を維持しているものの、増殖至適温度が 30°C と高く、デンプン分解能、ガラクトースおよびセロビオース資化能を有する。

以上、*V. halioticoli* の完全ゲノムの取得に成功し、アルギン酸の代謝系遺伝子群のゲノム上での位置関係を明らかにした。さらに、少なくとも 9 種類の遺伝子はアルギン酸分解酵素として機能しうることを明らかにし、本菌のアルギン酸代謝系の基盤を構築した。さらに、海藻バイオマスの効率的な利用に向け、複数の糖質を代謝可能な生物触媒の開発が求められる中、*V. ishigakensis* と名付けた新規な海洋微生物触媒の発掘にも成功した。これらの成果は、海洋微生物学のみならず、海洋微生物資源を活用した海洋生物工学の分野にも貢献する知見である。よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。