



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Genomic and proteomic study of dissimilatory sulfur metabolism [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	梅澤, 和寛
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第13109号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70351
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kazuhiro_Umezawa_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士（環境科学）

氏名 梅澤和寛

審査委員	主査	教授	福井	学
	副査	教授	森川	正章
	副査	助教	小島	久弥
	副査	助教	寺島	美亜

学位論文題名

Genomic and proteomic study of dissimilatory sulfur metabolism
(ゲノミクスおよびプロテオミクスによる異化的硫黄代謝の研究)

無機硫黄化合物を異化的に代謝することでエネルギーを獲得する微生物には、硫黄酸化細菌、硫酸還元細菌、硫黄不均化細菌が含まれる。硫黄酸化細菌や硫酸還元細菌は、硫黄化合物を酸化もしくは還元する際に、それとは異なる化合物を電子供与体もしくは電子受容体として利用する。硫黄不均化反応とは単一の硫黄化合物から硫化水素と硫酸イオンを生成する反応であり、硫黄不均化細菌はチオ硫酸イオンや単体硫黄を不均化することで生育に必要なエネルギーを獲得する。また、硫酸還元細菌による硫酸還元を行う酵素群はほぼ解明されている。一部の硫黄酸化細菌がその酵素群を有しており、酵素群は硫黄酸化において硫酸還元に対して逆向きに作用する。硫黄不均化細菌の多くも有しているが、硫黄不均化における酵素群の役割は未だ解明されていない。また、異化的硫黄代謝を行う細菌は数多く分離されている。しかし、分離された細菌の中で、これまでに異化的硫黄代謝経路が明らかとなっているものは少ない。本研究では、硫黄酸化細菌と硫黄不均化細菌を中心としてゲノミクスとプロテオミクスを行い、異化的硫黄代謝機構を解明することを目的とした。

*Proteobacteria*門*Gammaproteobacteria*綱*Acidiferrobacterales*目に属する硫黄酸化細菌はこれまで3種しか純粋培養されていないが、様々な環境から本目に属する細菌は見つかっている。しかし、これまで本目に属する細菌の硫黄酸化経路は明らかとなっていなかった。本目に属する硫黄酸化細菌である*Sulfuricaulis limicola* HA5^T株および*Sulfurifustis variabilis* skN76^T株を用いてゲノム解析を行った。その結果、両株とも上述した酵素群を介した硫黄酸化を行うことが明らかとなった。

また、これまでに*Nitrospira*門に属する硫酸還元細菌が分離されているが、本門に属する硫黄不均化細菌は報告されていなかった。本研究では、*Nitrospira*門に属するほぼ1種の硫黄不均化細菌から構成される集積培養系を確立した。さらに、本種に由来するドラフトゲノムを獲得した。このドラフトゲノムは約2.4Mbpと約44kbpのコンティグから構成され、保存性の高い遺伝子を全て有していたことから、代謝機構を推定するのに十分な質のドラフトゲノムであると考えられる。本種は硫酸還元に必要な酵素群をコードする遺伝子を全て有していることが明らかとなった。しかし、生理学試験の結果、本集積培養系に含まれる細菌は硫酸還

元により生育しなかった。したがって、本種は硫酸還元能を欠く硫黄不均化細菌であると結論づけた。ゲノム上にある16S rRNA遺伝子配列を用いて系統解析を行った結果、既知の分離株に対する配列相同性は最大でも90%以下であり、既知の分離株とは独立した系統に位置していた。以上の結果から、本種は新規性の高い硫黄不均化細菌であることが明らかとなった。

硫黄不均化細菌の多くが硫酸還元細菌に近縁であり、硫酸還元に必要な酵素群を有している。しかし、それら硫黄不均化細菌の一部は硫酸還元により生育できない。硫黄不均化に特異的に関与する遺伝子を探索するために様々な系統に属する細菌を対象にして比較ゲノム解析を行った。解析には、*Deltaproteobacteria*綱、*Clostridia*綱、*Thermodesulfobacteria*綱、*Nitrospira*綱、*Synergistia*綱に属する無機硫黄化合物を還元もしくは不均化する92種を用いた。硫酸還元能を欠く硫黄不均化細菌に共通する遺伝子から硫酸還元細菌が有していない遺伝子を探索した。その結果、硫酸還元能を欠く硫黄不均化細菌に特徴的な遺伝子に硫黄の輸送と受渡しに関与する遺伝子が含まれていた。それらを含む硫黄不均化細菌に特徴的な4つの遺伝子は硫酸還元能を欠く硫黄不均化細菌のゲノム上で遺伝子クラスターを形成していることが明らかとなった。また、*Thermodesulfobacteria*綱に属する硫酸還元能を欠く硫黄不均化細菌である*Caldimicrobium thiodismutans* TF1^T株を用いて、チオ硫酸不均化条件もしくは単体硫黄不均化条件で発現するタンパク質を網羅的に解析した。本遺伝子クラスターにコードされたタンパク質と、硫酸還元に必要な酵素群は硫黄不均化条件にかかわらず細胞内で高発現していることが明らかとなった。以上の結果により、本遺伝子クラスターによる硫黄の輸送と受渡しが硫黄不均化において重要な役割を持つことが示唆された。

本研究では、*Nitrospira*門に属する硫黄不均化細菌のドラフトゲノムを獲得し、それを含む幅広い系統に属する細菌を対象にして比較ゲノム解析を行った。その結果、硫酸還元能を欠く硫黄不均化細菌による硫黄不均化機構の特徴を明らかとした。今後、比較ゲノム解析で見つかった遺伝子にコードされるタンパク質や硫黄不均化細菌が持つ硫酸還元を行う酵素群の機能を解析することによって、硫黄不均化経路が解明されると期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士(環境科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。