

氏名(本籍)	DANG Tran Hoang (ベトナム)
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	甲第279号
学位授与年月日	平成27年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項
研究科・専攻名	工学研究科・基盤工学専攻
学位論文題目	海洋細菌 <i>Pseudoalteromonas</i> sp. 520P1 における クオラムセンシング機構の研究 Study on the quorum sensing mechanism in a marine bacterium <i>Pseudoalteromonas</i> sp. 520P1

論文審査	(主査) 高知工科大学 教授 榎本 恵一 高知工科大学 准教授 有賀 修 高知工科大学 准教授 堀澤 栄 元鳥取大学 教授 佐藤 健三 米沢栄養大学 教授 佐塚 正樹 高知工科大学 准教授 松本 泰典
------	---

審査結果の要旨

1. 論文の評価

Pseudoalteromonas sp. 520P1 株は室戸海洋深層水中より分離された海洋細菌であり、抗菌、抗ウイルス、抗トリパノソーマ、抗腫瘍作用等の生理活性をもつ青紫色素ヴィオラセインを産生する。ヴィオラセインは5つの酵素 VioA~VioE の作用により合成され、これらの酵素遺伝子は一つのオペロンvioABCDE を構成している。このオペロンの発現は、この細菌が自ら合成し分泌する誘導因子である *N*-acyl-homoserine lactone (AHL) によって誘導される。このような誘導因子による二次代謝産物の遺伝子発現制御をクオラムセンシングと呼んでいる。

AHL が関与するクオラムセンシングには2つのタンパク質が必須である。1つは AHL 合成酵素 LuxI であり、あと1つは AHL を結合する受容体タンパク質 LuxR である。AHL と受容体タンパク質の複合体は、該当する遺伝子またはオペロンに作用し、その発現を誘導する。520P1 株におけるヴィオラセイン合成は、AHL による発現誘導によって制御されることが先行する研究によって示されていたが、この細菌のクオラムセンシング機構に関わる AHL 合成酵素と受容体タンパク質についての知見は今まで全く得られていなかった。本論文はこれを細菌の全ゲノム解析によって解明したものであり、学術的に重要な成果であると考えられる。

本論文では、520P1 No.412 株から抽出されたゲノムを用い、次世代シーケンサーにより全ゲノムの DNA 塩基配列を決定した。次にホモロジー検索により遺伝子の探索とその性質のアノテーションを行った。その結果、520P1 株には1つの LuxI 相同遺伝子(PalI)と5つの LuxR 相同遺伝子(PalR1~PalR5)が存在することが示された。これらの遺伝子によって決定されるアミノ酸配列を、*Pseudoalteromonas* 属の近縁な細菌を含む各種細菌の相同タンパク質のアミノ酸配列と比較したところ、520P1 株の PalI と他の *Pseudoalteromonas* 属細菌の LuxI との相同性は 37~45%にとどまっていた。PalR1~PalR5 相互のアミノ酸配列相同性は 16~44%と低かったが、PalR5 は *Pseudoalteromonas citrea* および *Pseudoalteromonas luteoviolacea* の LuxR とそれぞれ 74% と 77% の高い相同性を示した。これは 5 つの PalR の遺伝子が、他の細菌からの遺伝子の水平伝搬によっ

て別々に獲得されたものであることを示唆している。

さらに PaII が AHL 合成酵素活性をもつことを検証するため、その遺伝子をゲノム DNA からクローニングし、大腸菌に組み込み、組み込まれた PaII 遺伝子の発現を行った。次に AHL 検出用に開発された *Agrobacterium tumefaciens* 株をレポーター株としたバイオアッセイによって AHL の有無を確かめた。その結果、組換え大腸菌が実際に AHL を合成すること、また、大腸菌内で合成される AHL には少なくとも 2 種類存在することが明らかになった。これにより PaII は AHL 合成酵素であることが証明された。

以上の結果は、520P1 株のみならず、細菌のクオラムセンシング機構の構成遺伝子およびそれから生成されるタンパク質の性質について重要な知見を与えるものである。したがって本研究は学位論文に値するものと考えられる。

2. 審査の経過と結果

- (1) 平成 27 年 7 月 8 日 博士後期課程委員会で学位論文の受理を決定し、6 名がその審査委員として指名された。
- (2) 平成 27 年 8 月 21 日 公開論文審査発表会及び最終試験を実施した。
- (3) 平成 27 年 9 月 2 日 博士後期課程委員会で学位授与を可とし、教育研究審議会で承認された。