

氏名	PEECHAPACK SOMYOONSAP
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第3759号
学位授与の日付	平成20年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Analysis of genes involved in <i>peg</i> operon and its surrounding regions (<i>peg</i> オペロンとその周辺領域に含まれる遺伝子の解析)
論文審査委員	准教授 金原 和秀 教授 鈴木 信弘 准教授 且原 真木

学位論文内容の要旨

Polyethylene glycols (PEGs) and their derivatives are industrially mass-produced xenobiotics that are used as surfactants, dispersants, cosmetics and lubricants in many fields. After use, they eventually show up in sewage water. Hence, microbiological degradation has been studied as a means to decompose this group of polymers. *Sphingopyxis terrae* and *S. macrogoltabida* strains 103 and 203 are capable of degrading PEG. They possess the *peg* operon which is responsible for the conversion of PEG to PEG-carboxyl-CoA. These three strains contained the *peg* operon with significant identity (more than 99%). The cluster is composed of *pegB* (homologous to TonB-dependent receptors), *pegC* (PEG-aldehyde dehydrogenase; PEG-ALDH), *pegD* (homologous to permeases), *pegA* (PEG dehydrogenase), *pegE* (PEG-carboxyl-CoA synthetase) and *pegR* (AraC-type regulator). *PegE* activated PEG-carboxylate and fatty acid. It might be responsible for the translocation of PEG-carboxylate from the periplasm into the cytoplasm or for the detoxification of strong acidity of the substrate. The upstream (3.0 kb) and downstream (6.5 kb) regions of the operon in strain 103 were cloned and sequenced. The sequence upstream of the operon contained genes encoding a set of transposases, a predicted transcriptional regulator (Lex A family), *AsmA* family membrane protein and carbamate kinase. The downstream region contains the genes for another set of transposases, PEG-carboxylate dehydrogenase (PCDH), glutathione S-transferase (GST), tautomerase and a hypothetical protein. The structure is well conserved between *S. macrogoltabida* strain 203 and *S. terrae*, except that two sets of transposases are absent in strain 203. The genes for *pcdh* and *gst* were transcribed constitutively and monocistronically, indicating that their transcription is independent of the operon regulation. PCDH and GST were expressed in *Escherichia coli* and characterized biochemically. PCDH is a homotetramer of 64 kDa subunits and contains one molecule of FAD per subunit. The enzyme dehydrogenates PEG-carboxylate to yield glyoxylate, suggesting that the enzyme is the third enzyme involved in PEG degradation. GST is a homodimer of 28 kDa subunits. GST activity was non-competitively inhibited by acyl-CoA and PEG-carboxylate-CoA, suggesting the interaction of GST with them. The proposed role for GST is to buffer the toxicity of PEG-carboxylate-CoA.

論文審査結果の要旨

8月18日に行われた博士論文発表会での発表ならびに質疑応答を受けて、本論文の学位審査を行った。本論文は、ポリエチレングリコール(PEG)の微生物分解における未解明の部分、特に代謝経路の3番目に当たる、カルボン酸化したPEGのエーテル結合を切断して、グリオキシル酸と短鎖化したPEGを生成する酵素である、PEGカルボン酸脱水素酵素をコードする遺伝子を、PEG代謝酵素遺伝子群をコードするオペロンの下流領域に見出した。さらに、クローンした遺伝子を用いて酵素を精製し、活性を確認した。この発見により、PEGが短鎖化して代謝されていくことが証明された。また、PEGを代謝する酵素遺伝子群のオペロン中に、PEGカルボン酸-Co-A合成酵素があり、カルボキシル化したPEGにCo-Aを添加することが確認された。しかし、生成物は毒性があるため、細胞にとっては有害である。そこで、オペロンの下流領域に新規に見出されたグルタチオン転移酵素との関連を調べた結果、複合体を形成して、その毒性を緩和していることが示唆された。また、本論文で見出された酵素遺伝子の重要性に関して質疑応答を行い、見出した現象の重要性を認識することができた。その結果、行った研究は学位論文として十分価値があると評価された。また、論文で行った研究の周辺分野に関して、質疑応答を行った。学力については、当該分野の知識は十分であり、今後の研究の展開に関して意義ある議論をすることができ、博士号取得者として十分なレベルであることを確認した。論文作成能力に関しては、英語で2編の投稿論文を書いていることから、十分な英語能力を有していることを確認した。以上の結果から、論文は博士(学術)として十分価値があり、学力は博士課程修了者として十分なレベルであるものと判定した。