

| | |
|---------|---|
| 氏 名 | 若井 晓 |
| 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3042号 |
| 学位授与の日付 | 平成17年 9月30日 |
| 学位授与の要件 | 自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当) |
| 学位論文の題目 | 鉄酸化細菌 <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> NASF-1 株における新規硫黄酸化経路の解明に関する研究 |
| 論文審査委員 | 教授 上村 一雄 教授 杉尾 剛 教授 白石 友紀 |

学位論文内容の要旨

本論文は、これまで *A. ferrooxidans*においてその存在が明らかにされている ubiqinol oxidase の生理的役割を明らかにするため、特にその硫黄酸化との関連性について生化学的ならびに分子生物学的な解析を行ったものである。鉄生育細胞と硫黄生育細胞における各種酵素活性の変動と阻害剤の影響を検討することによって、本菌の鉄酸化と硫黄酸化が異なる電子伝達系を使用し、硫黄生育細胞の硫黄酸化には、キノンが関与していることを明確に示した。また、硫黄生育細胞では、鉄酸化に関する酵素活性や亜硫酸酸化活性が低下しているが、硫化物酸化活性、ubiquinol oxidase活性、並びに sulfide:quinone oxidoreductase (SQR) 活性が増加していることを見いたしました。SQRについては、硫黄生育細胞では転写レベルでも活性化が起こっていることを確認した。さらに、細胞膜を用いた硫化水素酸化活性への各種阻害剤の検討により、SQRがキノンプールへの電子の輸送を媒介する重要な役割を演じることを明らかにした。その酵素を鉄酸化細菌から初めて約128倍まで精製し、その性質を明らかにした。さらに本酵素のN-末端アミノ酸情報をもとにその遺伝子をクローニングし、大腸菌で発現させた。発現タンパク質は封入体を形成し、活性のあるタンパク質の発現には成功しなかったが、発現タンパク質を用いて調製した抗体は精製酵素と反応し、鉄生育細胞よりも硫黄生育細胞内に SQR が多量に発現していることを、ウエスタン解析により明らかにした。これまで、硫黄の酸化には、cytochrome c oxidase が関与すると考えられてきたが、本研究結果から、元素硫黄で生育した *A. ferrooxidans* では、元素硫黄が硫化水素を介して酸化され、その酸化には、SQR および *bd*-type ubiquinol oxidase が関与するという新規な還元型硫黄化合物の酸化経路を提案した。

論文審査結果の要旨

鉄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* は、微生物を用いた有用金属の溶出技術であるバクテリアリーチングにおける重要な細菌の一つとして考えられており、その鉄や硫黄の酸化機構の解明は、本菌のバクテリアリーチング能を向上させるための新たな手法の開発に寄与することが期待される。本菌の鉄酸化経路はほぼ解明されているが、硫黄酸化経路は未解決の部分が多く残されている。

本論文では、これまで *A. ferrooxidans* においてその存在が明らかにされている ubiquinol oxidase の生理的役割を明らかにするため、特にその硫黄酸化との関連性について生化学的ならびに分子生物学的な解析を行ったものである。鉄生育細胞と硫黄生育細胞における各種酵素活性の変動と阻害剤の影響を検討することによって、本菌の鉄酸化と硫黄酸化が異なる電子伝達系を使用し、硫黄生育細胞の硫黄酸化には、キノンが関与していることを明確に示した。また、硫黄生育細胞では、鉄酸化に関する酵素活性や亜硫酸酸化活性が低下しているが、硫化物酸化活性、ユビキノール酸化酵素活性、並びに硫化水素：キノン酸化酵素活性 (SQR) が増加することを見いだした。SQR については、硫黄生育細胞では転写レベルでも活性化が起こっていることを確認している。さらに細胞膜を用いた硫化水素酸化活性への各種阻害剤の検討により、SQR は、キノンプールへの電子の輸送を媒介する重要な役割を演じることを明らかにした。その酵素を鉄酸化細菌から初めて約 128 倍に精製し、その性質を明らかにした。さらに本酵素の N-末端アミノ酸情報をもとに遺伝子をクローニングし、大腸菌で発現させた。発現タンパク質は封入体を形成し、活性のあるタンパク質の発現には成功しなかったが、発現タンパク質を用いて調製した抗体は精製酵素と反応し、鉄生育細胞よりも硫黄生育細胞内に SQR が多量に発現していることを明らかにした。これらの結果から、元素硫黄で生育した *A. ferrooxidans* では、元素硫黄が硫化水素を介して酸化され、その酸化には、SQR および *bd*-type ubiquinol oxidase が関与するという新規な還元型硫黄化合物の酸化経路を提案した。

以上、本研究は、*A. ferrooxidans* の硫黄酸化経路の理解に大きく貢献する成果を含んでおり、既にその成果の一部は、最新のバクテリアリーチングに関する総説にも引用され、高く評価されている。従って、審査委員会は、本論文が博士（学術）の学位に値するものであると判定した。