【274】

氏　名（本籍）	佐々木　康　幸（福岡県）
学位の種類	博　　士（農　　学）
学位記番号	博　甲　第　3534　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	***Streptomyces*** **属細菌の有機体窒素の異化代謝に関する分子生物学的解析**

主　査	筑波大学教授	農学博士	星　野　貴　行
副　査	筑波大学教授	農学博士	小　林　達　彦
副　査	筑波大学助教授	農学博士	中　村　　顕
副　査	筑波大学教授	農学博士	酒　井　愼　吾

論文の内容の要旨

自然界では，窒素は，2分子窒素（窒素ガス）をはじめとして，窒素酸化物，アンモニア，アンモニウム塩等の無機窒素化合物，或いは生体内の有機窒素（アミノ酸等）等，様々な形態をとり存在している。これらの窒素ガス，窒素化合物は生物により代謝され，絶えずその形態を変えて地球を循環している。脱窒とは，微生物の作用により硝酸や亜硝酸が一酸化窒素（NO），亜酸化窒素（N_2O），窒素ガスへと順次還元され，最終産物のガス状窒素が大気中に放出される現象である。これまで，共脱窒という現象が，かびに見出されている，共脱窒とは，亜硝酸とその他の窒素化合物（アミノ酸，アンモニアなど）からハイブリッドな窒素ガス，或いはN_2Oを生成する現象である。

本研究では，*Streptomyces antibioticus* による硝酸の還元から窒素ガス或いはN_2Oの生成までの一連の代謝系（脱窒，共脱窒）を詳細に解析した。これまで好気的な生物とされた放線菌が，実は通性嫌気性菌であることを実証した初の例である。*S.antibioticus* の脱窒はこれまで知られている脱窒菌のそれとは性質が異なり，生産される窒素ガスは，そのほとんどが亜硝酸とその他の窒素源とからなるハイブリットな窒素ガスであった。このことから *S.antibioticus* が強い共脱窒活性を有していることが明らかとなった。窒素酸化物を基質とするいわゆる脱窒は，一般的な脱窒細菌と同様に，本菌にとっても嫌気呼吸としての生理的意義を有していたが，共脱窒が本菌にとってどのような役割を有しているのかは明らかにできなかった。物理化学的あるいは生物学的には，この共脱窒反応からエネルギーを産出することは理論上可能である。共脱窒は，anammox と同様に本菌にとってもエネルギー生産系である可能性は十分に考えられ，共脱窒反応についての今後の解析が期待される。

S.antibioticus に明瞭な有機体窒素からの亜硝酸生産活性を見出した。この亜硝酸生産活性と好気的な脱窒及び共脱窒能と組み合わせることにより，廃水中の有機体窒素除去への応用が期待されたが，本研究ではこれを実証することはできなかった。本菌が亜硝酸生産条件で脱窒系の酵素群を菌体内に生産していたこと，ならびに本菌が好気的な脱窒活性を有していたことから，培養条件等を検討することにより，本菌を用いて有機体窒素から直接脱窒に至る経路を構築し，応用することは十分に可能と考えられた。

S.antibioticus の亜硝酸生産の代謝系を分子生物学的に解析し，その代謝系の生理的意義を検証した結果，

本菌は菌体内で何らかの基質から生成したNOに由来する硝酸より，膜結合型のnitrate reductase（Nar）を用いることによって亜硝酸を生成すると推察された。本菌のNarは脱窒条件で機能していたNarと同じものであると考えられ，硝酸を亜硝酸に還元する際に得られるエネルギーを生産していると考えられた。同菌から得られたflavohemoglobin（FHb）は，NOを硝酸に酸化する酵素である。既知の微生物では，FHbはNOの毒性から自身を守るために生産されると考えられているが，本菌では既知のFHbとは異なる培養条件で発現，生産されていた。またその培養条件で亜硝酸を生産していたことから，本菌の亜硝酸生産代謝系の一端を担っていると考えられる。この様な，微生物自らが有機体窒素から呼吸基質（硝酸）を作り出し，それによってエネルギー生産を行う例はこれまでに報告されていない。

本研究の結果を総合して，放線菌*S.antibioticus*内で行われている，有機体窒素からNO生産を介した硝酸呼吸による新規なエネルギー生産系を提案した。*S.antibioticus*内で，培地中の有機体窒素は細胞内に取り込まれ，NOSによりNOへと変換される。NOはFHbにより硝酸へと変換された後，Narにより亜硝酸へと変換され，細胞外へ放出されるが，最後の過程でエネルギーが生産されるというものである。

*S.antibioticus*の有機体窒素の無機化と，無機窒素化合物の異化代謝に関する研究は，本論文でやっとその緒についたばかりである。今後，微生物の新たな窒素代謝に関する研究を行う上で，非常に有意義な知見が得られたと思われる。

審査の結果の要旨

これまでは好気性であるとされてきた放線菌が，通性嫌気的に生育できる微生物であることを明らかにしたことの意義は大きい。*Streptomyces antibioticus*の脱窒が，共脱窒であることを明らかにし，さらにその代謝系を分子生物学的に解析し，新規なエネルギー生産系を提案したことも高く評価できる。さらに，本菌の亜硝酸生産能と好気的脱窒系とを組み合わせることによって，廃水処理・環境浄化への応用の可能性を示したことも有意義である。

以上のように，本研究は，*S.antibioticus*の窒素代謝に関して，基礎・応用の両面から多くの新しい知見を明らかにした。従って，得られた成果の役割は大きいと判断する。

よって，著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。