

氏名(本籍)	桑崎誠剛(香川県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第3095号
学位授与年月日	平成15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	糸状菌 <i>Fusarium oxysporum</i> の嫌気代謝に関する研究
主査	筑波大学教授 農学博士 小林達彦
副査	筑波大学教授 農学博士 馬場忠
副査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学教授 理学博士 山根國男

### 論文の内容の要旨

地球上のほとんどすべての真核生物は、生育に必要なエネルギーのほとんどを好気的な酸素呼吸により得ているが、糸状菌や酵母などの真菌の多くは、低酸素条件下に曝されたときに嫌気的な呼吸系である硝酸呼吸系を発現し生存する。糸状菌 *Fusarium oxysporum* は硝酸呼吸をおこなうことが見出された最初の真核生物であり、その構成成分についての詳細な解析がなされている。これまでの研究から、本菌の硝酸呼吸活性の発現には少量の酸素が必要であり、低酸素条件下で硝酸が存在する場合には酸素呼吸と硝酸呼吸の両方をおこなっている可能性が示されているが、これは、細菌の硝酸呼吸系の発現が酸素によって抑制されることと対照的である。また、ごく最近、本菌が嫌気条件下で、硝酸呼吸以外の異化的硝酸還元系(アンモニア発酵)を発現することも明らかとなり、カビが低酸素条件下で、様々な異化的代謝系を使い分けることによって生存することが示唆された。本研究では、カビの低酸素条件下への適応機構の解明を目的として、*F. oxysporum* の呼吸系の酸素や硝酸などによる発現制御様式の解析を酵素レベルで行った。また、硝酸呼吸系の解析を通して、真核生物として初めてC1化合物の異化的代謝系を発見し、その詳細を解析した。

第一に、カビの硝酸呼吸系が局在化しているミトコンドリアの電子伝達系の発現様式についての解析を行った。その結果、酸素呼吸に関与する全てのミトコンドリア呼吸鎖構成成分は、低酸素条件の硝酸呼吸条件下でも酸素呼吸条件下と同程度であることが示された。これに対して、硝酸呼吸系を構成する酵素である硝酸塩還元酵素(Nar)、亜硝酸塩還元酵素(Nir)、一酸化窒素還元酵素の活性の発現は硝酸と酸素により、それぞれ正、負に調節されることが示された。これらの酵素のうち、NarとNirの呼吸鎖と共役していた。以上の結果から、*F. oxysporum* は、酸素呼吸に関わる呼吸鎖を利用して硝酸呼吸していることが初めて示唆された。これは、本菌が、呼吸特異的な末端酸化酵素だけを合成することによって低酸素条件下に適応可能なことを示唆するものであり、カビが合理的な低酸素への適応機構をもつことを意味すると考えられた。一方、大変興味深いことに、上記の解析の過程で、アンモニア発酵条件下のミトコンドリアが、通常の硝酸呼吸条件下のそれと比較して非常に強いNar活性を示すことを見出した。また、このNar活性がギ酸脱水素酵素によるギ酸の酸化と共役することを見出した。さらに、これらの反応は硝酸呼吸よりも低酸素条件(完全嫌気条件)で効率よく起きることを示した。これまで、ギ酸の異化的代謝は大腸菌などの一部の細菌による硝酸の還元と共役したものしか知られておらず、カビがこのような系を持つことは、生物のエネルギー獲得機構の進化を考える上で興味深い。また、完全嫌気条件の菌体抽出

物中に有意なギ酸・ピルビン酸リアーゼ活性が検出された。カビや酵母によるギ酸などのC1化合物の代謝は、メタノール酵母によるメタノールの同化的な利用しか報告されていないことから、本発見は、菌類のC1化合物の代謝の多様性を示す例として重要である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、カビの嫌気条件下での呼吸系を詳細に解析することによって、真核生物の低酸素条件下への適応機構や呼吸系の進化についての新たな学説を提唱したものである。特に、カビ *F. oxysporum* が酸素と硝酸がともに存在する条件下で酸素呼吸と硝酸呼吸の両方を同時に行うことの発見は、他の生物を通してこれまで報告されていないことから新規性が高い。さらに、この呼吸系を新たな「複合呼吸系」と呼ぶことを提言したことは、今後の生物の呼吸系・エネルギー獲得系の分野の学問の進展に大きく寄与すると思われる。また、真核生物によるC1化合物の代謝についてはこれまで未知の部分が大きかったが、同菌がC1化合物を異化（あるいは呼吸）的に代謝することを、真核生物として初めて見出した。これは真核生物の呼吸系の多様性の一例として学術的に重要であると思われる。

以上のように、本研究は、真核生物の呼吸系の進化と機能にとって重要な知見をもたらしたといえる。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。