

氏名(本籍)	えだしま 江田志磨(栃木県)		
学位の種類	博士(学術)		
学位記番号	博甲第2290号		
学位授与年月日	平成12年3月24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	枯草菌ヒスチジン資化 ( <i>hut</i> ) オペロンのプロモーター領域における調節機構の解析		
主査	筑波大学教授	農学博士	中原忠篤
副査	筑波大学教授	農学博士	祥雲弘文
主査	筑波大学教授	理学博士	山根國男
主査	筑波大学助教授	農学博士	星野貴行

### 論文の内容の要旨

グラム陽性菌の代表的菌種として分子遺伝学、生物学および農学分野において広く研究されてきた枯草菌 (*Bacillus subtilis*) では、カタボライト抑制の調節機構が大腸菌に代表されるグラム陰性菌とはまったく異なることが知られていた。近年、炭素源のカタボライト抑制を受ける多くの遺伝子の発現が CcpA という DNA 結合蛋白質により調節されていることが明らかになった。しかし、CcpA に依存しないカタボライト抑制の調節機構の存在も示唆されており、炭素源のカタボライト抑制の機構全体の解明には至っていなかった。また、枯草菌における窒素源のカタボライト抑制の調節機構についてはほとんど明らかにされていなかった。

枯草菌ヒスチジン資化 (*hut*) オペロンは、プロモーター、オペロンの antiterminator をコードしている *hutP* 遺伝子、および internal terminator からなる調節領域と、その下流のヒスチダーゼをはじめとするヒスチジン資化に必要な5つの酵素の遺伝子とで構成されている。*hut* 構造遺伝子の発現は、ヒスチジンにより誘導され、グルコースや複数のアミノ酸の存在により抑制される(以降、グルコースによる抑制をカタボライト抑制、複数のアミノ酸による抑制をアミノ酸抑制と示す)。*hut* オペロンのプロモーターからの転写は、ヒスチジンによる誘導で上昇し、カタボライト抑制およびアミノ酸抑制により抑制されることが明らかになっていた。しかし、これらの調節機構の詳細については明らかにされていなかった。

本論文では、*hut* オペロンの発現調節機構、特にカタボライト抑制およびアミノ酸抑制による制御機構を明らかにするために、プロモーター領域での転写制御について詳細な解析を行うことにより、以下のことを明らかにした。

- (i) *hut* プロモーターでの転写のアミノ酸抑制には DNA 結合蛋白質 CodY が必要であり、CodY は +14 と +23 (おそらく +29 と +30 も) の塩基を介して *hut* プロモーターでの転写のアミノ酸抑制を調節している。
- (ii) CodY は *hut* プロモーターでの転写のカタボライト抑制には必要ない。また、以前報告されていたプロモーター下流に存在するカタボライト抑制の調節配列は転写のカタボライト抑制には必要ない。
- (iii) CodY は、非誘導、誘導、およびカタボライト抑制条件下における *hut* プロモーターの転写活性を負に調節している。

これらの結果から、アミノ酸抑制による転写制御は、CodY が直接プロモーター下流域に結合することで制御されていること、カタボライト抑制の調節機構に加えて、転写を調節する新たな機構として CodY が関与する負の制

御機構が存在することが示唆された。

CodYは、調べた全ての培養条件下（非誘導、誘導、カタボライト抑制、およびアミノ酸抑制）で転写制御に関わることから、常にプロモーター下流域と相互作用していると考えられた。CodYは細胞内外の栄養状態のシグナルを受け取って制御の強弱を行っていると考えられた。プロモーターでのカタボライト抑制の調節機構はCcpAにもCodYにも依存しないことが明らかとなった。これより、hutオペロンでは、プロモーターの他の領域で、CcpAに依存しないカタボライト抑制の調節機構が働いていると推定された。

## 審査の結果の要旨

本論文は、カタボライト抑制（炭素源によるカタボライト抑制）とアミノ酸抑制（窒素源によるカタボライト抑制）の両方によってその発現が調節されている枯草菌のhutオペロン（ヒスチジン資化オペロン）の調節機構について検討したものである。

枯草菌のカタボライト抑制、アミノ酸抑制の制御機構については、本研究の研究開始当初にはほとんどわかっておらず、カタボライト抑制にCcpAが関与することが報告され始めた頃であった。

hutオペロンについては、プロモーター部位でのカタボライト抑制にはCcpAが関与しないことがわかった。CcpAが関与しないカタボライト抑制の例は他にも1例報告されていたが、その場合はCodY（アミノ酸抑制の調節因子として報告されている）が関与するとされていた。ところがhutオペロンではCodYもプロモーターレベルでのカタボライト抑制には無関係であった。本研究によって、CcpA、CodY以外の未知の調節機構によって調節されるカタボライト抑制のシステムが枯草菌に存在することが明らかとなったことは高く評価されて然るべきと考えられる。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。