

氏名（本籍）	張 万筠 (Zhang Wanjun)	(中華人民共和国)
学位の種類	博 士 (環境学)	
学位記番号	博 甲 第 6688 号	
学位授与年月日	平成 25 年 7 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	生命環境科学研究科	
学位論文題目	Genetic Analysis of Chloral Hydrate Dechlorination in <i>Pseudomonas putida</i> LF54 ( <i>Pseudomonas putida</i> LF54 株におけるクロラルの脱クロル反応に関する遺伝学的解析)	
主査	筑波大学教授	博士 (工学) 野村 暢彦
副査	筑波大学教授	博士 (農学) 張 振亜
副査	筑波大学教授	博士 (理学) 辻村 真貴
副査	筑波大学准教授	博士 (学術) 中島 敏明
副査	筑波大学名誉教授	農学博士 内山 裕夫

## 論 文 の 要 旨

ハロゲン化合物は、環境残留性や毒性を有し、有害物質に変換される場合もあるため、非常に深刻な環境汚染を引き起こすことが知られている。実環境中では幾つかのハロゲン化合物は生分解され、その鍵となる反応は脱ハロゲン反応である。脱ハロゲンによってハロゲン化合物の生分解性は向上し、有害中間代謝産物が生成される割合は低下する。従って、微生物による脱ハロゲン反応を生化学的および遺伝学的に理解することは、ハロゲン化汚染物質の除去において重要である。

抱水クロラル (CH) は通常、殺虫剤や除草剤の製造における中間体として使用され、また、飲料水の塩素消毒によっても生成される。CH が生分解されることは数十年前から知られていたが、その分解機構の遺伝学的解明はなされていない。既往研究によって、CH を唯一炭素源およびエネルギー源として利用することができる *Pseudomonas putida* LF54 株が単離され、CH はトリクロロエタノール (TCAol) に変換された後、dichloroethanol (DCAol) を経て CO<sub>2</sub> に脱ハロゲンされて分解されることが明らかになっている。本論文では、本菌株を用い CH の脱ハロゲン反応について遺伝的解析を行った。脱ハロゲン酵素遺伝子のクローニングを行った結果、LapA (Large adhesion protein A) が、CH の脱クロルの初期段階と関連していることが示された。LapA は *Pseudomonas putida* を構成する最も分子量の大きな巨大タンパクであり、様々な細胞表層部位と結合して Biofilm 形成に関与することが報告されているが、CH のような低分子塩素化合物の分解との関連性については全くなく、LapA が CH の生分解と関係することが確認され、新しい知見を見いだした。さらに、LapA が *Pseudomonas putida*

LF54 株のバイオフィーム形成、さらに運動性や細胞外小胞の形成にも関与することを明らかにした。これらの結果から、抱水クロラール (CH) が、運動性やさらに細胞外小胞の形成にも関与することを導き出すことに成功した。

以上、*Pseudomonas putida* LF54 株において、LapA が CH の脱クロルの初期段階に関与していることと、その LapA の解析から、CH に対する細胞生理学的諸性質を明らかにすることで、*Pseudomonas putida* LF54 株における CH の脱クロル機構の解明に大きく寄与した。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、環境汚染物質の一つであるハロゲン化合物の抱水クロラール (CH) の細菌による脱クロルについて研究を行っている。具体的には、CH をトリクロロエタノール (TCAol)、dichloroethanol (DCAol) を経て CO<sub>2</sub> まで分解できる *Pseudomonas putida* LF54 株を用いて遺伝子レベルまでその分解機構を調べている。その結果、LapA (Large adhesion protein A) が CH の脱クロルの初期段階に関与することを明らかにしている。LapA は、すでに細胞表層に存在する巨大タンパクでバイオフィームの形成に関与することが報告されているが、本研究で初めて、それ以外にも CH の脱クロルに関与することを報告している。さらに、それらの知見を基に、本細菌の CH 存在下で、バイオフィーム形成・運動性そして細胞外粒子の生産放出が異なることも見いだしている。

以上のように、本博士論文で、細菌の環境汚染物質であるハロゲン化合物の一種である抱水クロラール (CH) の分解について、細胞表層に存在する巨大 LapA タンパクが関与するとともに、さらに CH が細胞の運動性さらに細胞外粒子生産に関与することを見いだしている。特に、環境分野において、環境汚染物質であるハロゲン化合物の細菌による分解除去における基礎的知見の提供とともに、ハロゲン化合物汚染環境下での細菌の生態学的知見にも踏み込んでおり、その成果は大きいと判断する。

平成25年5月22日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (環境学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。