

氏名（本籍）	濱田 将風	（佐賀県）
学位の種類	博 士	（ 農学 ）
学位記番号	博 乙 第 2712 号	
学位授与年月日	平成 2 6 年 1 0 月 3 1 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当	
審査研究科	生命環境科学研究科	
学位論文題目	呼吸鎖が緑膿菌の環境挙動に与える影響の解析	
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） 高谷直樹
副査	筑波大学准教授	博士（工学） 橋本義輝
副査	筑波大学教授	農学博士 佐藤誠吾

論 文 の 要 旨

生物の生命活動に最も重要な ATP を生産する為には、呼吸鎖における電子伝達が必要とされる。呼吸鎖は ATP 生産の支持という生理的機能を有するが、実はそれだけにとどまらない。一般的に、真核生物はヘム a、a₃ で構成された末端酸化酵素 Aa₃ をもつ。Aa₃ は呼吸鎖における電子伝達の末端反応に寄与する。その一方、Aa₃ が自発的細胞死（アポトーシス）の誘導に寄与することが明らかとなってきた。すなわち、真核生物の呼吸鎖を構成する Aa₃ は ATP 生産だけでなく細胞運命決定にも寄与するといえる。一方、多くの原核生物（細菌）の呼吸鎖について ATP 生産以外の細胞挙動への寄与はこれまでにあまり知られていない。

緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* は酸素を用いる好気呼吸と窒素酸化物を用いる嫌気呼吸（脱窒）を行う。好気呼吸には、保有する 5 つの末端酸化酵素（Cyo、Cio、Aa₃、Cbb3-1、Cbb3-2）が寄与する。特に、Cbb3 は緑膿菌の好気呼吸に強く寄与する。一方、興味深いことに、嫌気脱窒条件下において二つの Cbb3 は Cyo、Cio、Aa₃ と比較して非常に高い転写発現を示すことがわかった。この結果は緑膿菌における Cbb3 の多機能性を示唆する。緑膿菌は嫌気環境下で脱窒により増殖することが可能である。好気環境下との代謝系の相違は環境中での緑膿菌の様々な挙動に変化を生じさせる。特に、脱窒における中間代謝産物の NO が緑膿菌の細胞生理に強く影響する。その多機能性を検証する為に、緑膿菌の呼吸鎖を構成する Cbb3 に着目した。そこでさらに、緑膿菌の嫌気環境下における様々な挙動に対する Cbb3 の影響及びその機構の解析を行った。

緑膿菌の嫌気環境下における様々な挙動に対する Cbb3 の関与を調べた。まず、Cbb3 が嫌気環境下における生育及び脱窒活性に影響することが示された。その脱窒経路において、Cbb3 が NO 蓄積を誘導していることが示された。さらに興味深いことにその NO 蓄積は DNA 合成阻害による細胞伸張を導いた。そして、細胞伸張及び細胞外 DNA 放出により、成熟したバイ

オフィウム形成が促進されることも明らかにした。これまで、緑膿菌の Cbb3 が嫌気脱窒条件下で転写発現を示すことが知られていたが、その条件下における生理的機能は未知であった。本研究より、Cbb3 が脱窒を介して嫌気環境下におけるバイオフィウム形成を促進することが新規に示された。

以上より、呼吸鎖の一種 Cbb3 は好気条件下においては他の呼吸鎖と同様に ATP 産生に寄与するが、嫌気条件下では NO の産生を介した生育抑制さらにバイオフィウム形成を促進することが示された。つまり、呼吸鎖の新たな重要な形質への寄与を見いだしたと言える。

審 査 の 要 旨

本論文は、原核細胞の緑膿菌の呼吸鎖について、分子生物学さらに生化学的手法を用いて詳細な解析を行っている。その結果、嫌気環境下では、Cbb3 は嫌気環境下における生育をあえて抑制することでバイオフィウム形成を促進することを明らかにしている。さらにそのメカニズムにおいて、Cbb3 が脱窒経路における中間代謝産物 NO の蓄積を誘導し、それが生育あるいはバイオフィウム形成に寄与することを明らかにしている。

以上のように、本博士論文で、原核細胞の呼吸鎖の新たな側面の抽出に成功している。具体的には、環境が異なると、呼吸鎖が ATP 生産のみでなく、他の形質（生育・バイオフィウム）発現制御に寄与することを見いだしている。このことは、細菌学の新たな基礎的知見を見いだただけでなく、細菌の制御に新たな糸口を与えている。よって、本論文は、特に農学において、食品・畜産（感染症）さらに環境（水処理等）分野にける細菌の制御に寄与すると判断される。

平成26年9月16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（農学）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。