

氏名（本籍） Nurul Syahirah Binti SHAMSOL ANUAR （マレーシア）

学位の種類 博士（環境制御学）

学位記番号 博甲第 9720 号

学位授与年月 令和 2 年 9 月 25 日

学位授与の要件 学位規則 第4条第1項該当（昭和28年4月1日文部省令第9号）

審査組織 グローバル教育院

学位論文題目 Genome Mining in Tropical Freshwater *Streptomyces* spp.: Identification and Expression of Geosmin Synthase Gene in Response to Temperature
(熱帯淡水放線菌種のゲノムマイニング：温度応答性に関するジェオスミン生成酵素遺伝子の同定と発現解析)

(職名)

(学位)

(氏名)

主査	筑波大学准教授（グローバル教育院）	博士（工学）	原 啓文
副査	筑波大学教授	博士（農学）	鈴木 石根
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	中山 剛
副査	筑波大学教授	博士（理学）	内海 真生

論文の要旨

ジェオスミンは淡水中の不快感臭い（カビ臭）に寄与するテルペノイド化合物である。放線菌の *Streptomyces* 属はラン藻類と共にこの臭気物質の主要な生産者である。環境中のジェオスミン発生予測や制御を行うには、ジェオスミン生産者とジェオスミン合成に影響を与える因子に関する情報が必要である。臭気問題は、季節的な温度変化のある温帯地域では夏期のラン藻類ブルーム時期に顕著であるが、温度変化の少ない熱帯地域での *Streptomyces* 属によるジェオスミン産生特性や温度に対するジェオスミン産生機構の詳細は解明されていない。本研究で著者は、臭気問題の対応や解決に資することを目標に、特に *Streptomyces* 属の温度に対するジェオスミン産生の調節機構を解明することを目的に実施した。

第1章で著者は、世界の淡水や上水の臭気に関する問題やジェオスミン発生に関する知見をとりまとめ、本研究を行う目的を説明している。既往研究から、特に温帯域で単離されたラン藻類や放線菌類の臭気物質産生は、温度、pH、溶存酸素濃度など様々な環境因子が影響を与えることが判明している。ここで *Streptomyces* 属の単離種間ではジェオスミン産生の最適温度にばらつきが認められるなど、温度の違いとジェオスミン産生との関係の詳細はまだよく理解されていない。そこで、特に異なる温度条件下での *Streptomyces* 属によるジェオスミン産生機構をより明確に理解することが重要であるとの認識のもと、本研究を実施した。

第2章では著者は、自身が単離した *Streptomyces* 属の菌株を用いジェオスミン合成酵素遺伝子のゲノムマイニングを行い、ジェオスミン合成酵素遺伝子がどのような機構で機能しているのかを調べている。材料の *Streptomyces* 属の2株（S1、S5）は年間平均気温27°Cで気温変動がない独特の気候を持つマレーシア単離株で、生息環境は温度変化が無いにもかかわらず2株が培養温度の違いでそれぞれ異なるジェ

オスミン産生能を持つことを明らかにしている。また、2株のゲノムシーケンスデータを用い、他酵素との相同性検索、ジェオスミン合成酵素保存領域の同定、二次代謝物生合成遺伝子クラスターの同定を行った。その結果、germacradienol/geosmin 合成酵素に関連する単一のオープンリーディングフレーム(*geoS1* と *geoS5*) を発見し、他の *Streptomyces* 属 73 種の germacradienol/geosmin 合成酵素配列と高い類似性を示すこと、さらに配列アラインメントの結果から *geoS1* と *geoS5* の N 末端ドメインと C 末端ドメインが完全に保存されていることを明らかにした。以上の結果から、*geoS1* と *geoS5* は germacradienol/geosmin 合成酵素として作用しジェオスミンを産生することが予想された。系統解析から germacradienol/geosmin 合成酵素は 6 つの異なる分岐群に分かれたが、この樹形は *Streptomyces* 属種の全ゲノムによる系統樹の樹形と矛盾しており、水平遺伝子導入 (HGT) が関与していると考察している。

第 3 章で著者は、S1 株と S5 株がジェオスミン生合成遺伝子群を保持していることを確認し、2 株の温度変化への反応や温度が *geoS1* と *geoS5* の発現に与える影響を調べるため遺伝子発現解析を行っている。異なる温度環境下でのジェオスミン生成と *geoS1*、*geoS5* の遺伝子発現を解析した結果、両遺伝子間でジェオスミン産生活性に差が生じていることが明らかになり、同じ化合物生成でも温度に対する制御機構が異なる可能性が示唆された。そこで、その制御機構を調べるため、これまで報告例のない *Streptomyces* 属のジェオスミン合成酵素について *geoS1* と *geoS5* を含めたオペロン構造の同定を行った。その結果、*Streptomyces* 属のジェオスミンオペロン構造にはいくつかの異なるパターンがあり、異なる遺伝子がジェオスミン合成に関与している可能性が示唆された。さらに、温帯と熱帯の異なる地域の *Streptomyces* 属種のジェオスミン合成酵素が *geoS1* や *geoS5* と同一分岐群に属していた。これらの結果から著者は、ジェオスミン合成酵素遺伝子が世界中に広く分布している *Streptomyces* 属に保存されていること、プロモーター領域やオペロン構造の違いから *Streptomyces* 属種のジェオスミン産生は温度が鍵の場合とそうでない場合があること、を指摘している。

第 4 章で著者は、*Streptomyces* 属の二次代謝物の生合成とジェオスミンの制御に関する本研究成果をまとめていく。結論として、ジェオスミン産生とジェオスミン合成酵素の発現を確認しオペロン構造を予測することで、温度変化の無い地域から分離された *Streptomyces* 属の間でもジェオスミンのような同じ化合物産生が異なる制御機構により影響を受けることを明らかにしている。

審査の要旨

【批評】

申請者は本研究で、近年の水域富栄養化の進行により世界中の淡水環境で発生している臭気問題の対策に資することを目的に、特に温度の違いとカビ臭物質産生との関係について放線菌 *Streptomyces* 属の単離株を用いてジェオスミン産生調整機構の解明を行った。申請者が温度変化の無い熱帯地域マレーシアで単離した *Streptomyces* 属 2 株 (S1 株、S5 株) は温度の違いによりジェオスミン産生特性が異なること、2 株ともジェオスミン合成酵素遺伝子 (*geoS1*、*geoS5*) を持つこと、*geoS1*、*geoS5* の構造の違いが温度変化による 2 株のジェオスミン産生に影響を与えている可能性があること、など多くの新しい知見を得ている。特に、*Streptomyces* 属のジェオスミンオペロン構造にはいくつかのパターンがあることを明らかにし、異なる遺伝子がジェオスミン合成に関与している可能性を持つことを初めて示した点は高く評価できる。本研究で得られた知見は、温帯地域でも夏期以外のすべての季節、特に冬期にも臭気問題が発生する可能性を示している。本研究は、*Streptomyces* 属の二次代謝物合成経路に関する更なる知見を得るために重要な情報となる他、淡水環境の臭気問題を管理する世界中の水道事業者への実質的な支援に繋がる成果である。

【最終試験の結果】

令和 2 年 7 月 7 日、専門委員会において、専門委員会委員の全員出席のもと、申請者に論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、専門委員会委員全員によって合格と判定された。

【結論】

上記の学位論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、申請者は博士 (環境制御学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。