

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Wichai Soemphol
審査委員	主査 松下一信 ⑩ 副査 森信寛 ⑩ 副査 川向誠 ⑩ 副査 山田守 ⑩ 副査 阿座上弘行 ⑩
題目	Molecular biological study of sugar alcohol oxidation systems in thermotolerant <i>Gluconobacter</i> strain (耐熱性グルコノバクター酢酸菌における糖アルコール酸化系の分子生物学的研究)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>グルコノバクター属酢酸菌は、糖や糖アルコールの不完全酸化を触媒する数多くの膜結合型脱水素酵素によって、培地中に著量の酸化生成物を蓄積する。こうした性質から、ビタミンC生産の重要な中間生産物であるL-ソルボースのような、有用物質の工業的発酵生産に利用されている。グルコノバクター属酢酸菌の膜結合型脱水素酵素の中に、D-ソルビトールを酸化する2種類の脱水素酵素が存在していて、L-ソルボース生産を担っている。一つはFAD依存性ソルビトール脱水素酵素 (FAD-SLDH) で、もう一つはピロロキノリンキノン依存性グリセロール脱水素酵素 (PQQ-GLDH) である。これまでに、タイで単離された耐熱性酢酸菌 <i>Gluconobacter frateurii</i> THD32 を用いて、FAD-SLDH の構造遺伝子を含むDNA領域がクローン化され、その構造遺伝子 <i>sldSLC</i> の上流域に、転写調節因子と推定される <i>sboR</i> と NAD(P) 酵素と予想される <i>sboA</i> が見つかった。</p> <p>本研究ではまず、<i>G. frateurii</i> THD32 の <i>sldSLC</i> 遺伝子オペロンの上流域に存在する <i>sboR</i> とそれに隣接する <i>sboA</i> の機能を解析している。SboA は大腸菌で発現され精製されて、NADPH 依存性 L-ソルボース還元酵素 (NADPH-SR) 活性を持つことが示された。また、<i>sboA</i> 欠損変異株を作製し、それが L-ソルボースでの生育が顕著に悪くなることから、SboA が L-ソルボースでの生育に必要であることが示された。一方、<i>sboR</i> 欠損変異株では、FAD-SLDH 活性の発現には影響がなく細胞質の NADPH-SR の活性が高くなり、L-ソルボースでの生育が野生株よりも良くなった。<i>sboRA</i> はオペロンを形成していることも示され、<i>sboR</i> は <i>sldSLC</i> の D-ソルビトールによる発現誘導には関係せず、<i>sboA</i> の発現抑制にだけ関与していることが明らかになった。</p> <p>本研究では次に、D-ソルビトールの酸化に関わる2種類の膜結合型酵素の生理学的役割の違いについて解析している。PQQ-GLDH 欠損株を作製すると、本菌の L-ソルボース生産の遅延とその蓄積量</p>	

の低下が起った。また、その欠損株の D-ソルビトール酸化活性が野生株よりもシアンに耐性であり、プロトン排出能力も野生株や FAD-SLDH 欠損株よりも低下していることを明らかにした。この結果は、PQQ-GLDH が末端オキシダーゼの一つチトクロームオキシダーゼ *bo3* に連結し L-ソルボース生産とエネルギー生成に主要な役割を担っているのに対して、FAD-SLDH はもう一つの末端オキシダーゼ CIO (シアン耐性オキシダーゼ) により強く連結していることを示唆している。さらに、FAD-SLDH は、L-ソルボースで誘導生産されることも明らかとなり、高濃度の D-ソルビトールが PQQ-GLDH によって L-ソルボースに変換・蓄積され、しかもまだ D-ソルビトールが残存している時に、NADPH-SR とともに誘導・生成されて、ソルボースの資化・利用に関与していることも示唆されている。

このように、本研究では、グルコノバクター属酢酸菌のソルボース発酵の生理学的解析を分子レベルで行い、L-ソルボース資化に関与する酵素系の遺伝子発現調節やソルビトール酸化系呼吸鎖の構成や機能について、多くの新知見を提出した。それ故、本研究は、基礎研究としても、また酢酸菌・酸化発酵の応用研究としても高く評価される成果をあげていると判断された。