

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Characterization of PNDOR3 homologs as sulfur reductases and identification of genes related to the sulfur-dependent growth in the hyperthermophilic archaeon
著者(和文)	HARNVORAVONGCHAIP
Author(English)	P Harnvoravongchai
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9989号, 授与年月日:2015年9月25日, 学位の種別:課程博士, 審査員:福居 俊昭,丹治 保典,和地 正明,松田 知子,平沢 敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9989号, Conferred date:2015/9/25, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Phurt Harnvoravongchai	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	福居 俊昭	教授	平沢 敬	准教授
	審査員	丹治 保典	教授		
		和地 正明	教授		
松田 知子		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は英文で書かれ、「Characterization of PNDOR3 homologs as sulfur reductases and identification of genes related to the sulfur-dependent growth in the hyperthermophilic archaeon」と題し、5章より構成されている。

第1章「General introduction」では本研究の背景として、超好熱性アーキア、微生物による硫黄代謝、Thermococcales 目超好熱菌における硫黄還元、超好熱菌のランダム変異について概説し、本研究の意義と目的について述べている。

第2章「Enzymatic characterization of four group 3 pyridine nucleotide disulfide oxidoreductase homologs from *Thermococcus kodakarensis* focusing on the sulfur reductase activity」では、超好熱菌 *Thermococcus kodakarensis* での PNDOR3 (group 3 pyridine nucleotide disulfide oxidoreductase) ホモログである TK1299、TK1481、TK0304、および TK0828 に着目し、これらの組換え型酵素を用いて硫黄 (S^0) 還元活性と酸素還元活性について検討している。TK1299 は近縁種において CoA-SH 依存型 NADPH: S^0 還元酵素と報告されている酵素と高い相同性を示し、同様に CoA-SH に依存した S^0 還元活性を示した。しかし詳細な活性測定から、添加した CoA-SH は S^0 を可溶化して CoA-persulfide および CoA-disulfide を生成すること、TK1299 は NADPH を電子供与体として CoA-persulfide および CoA-disulfide を還元して硫化水素 (H_2S) を生成することを示している。すなわち、TK1299 およびその類縁酵素は NADPH: CoA persulfide/disulfide 還元酵素であることを明らかにしている。さらに、TK1481 は CoA-SH 非依存的に S^0 を直接還元可能な NADPH: S^0 還元酵素であること、TK0304 は O_2 を還元する NADH oxidase であること、および TK0828 は S^0 や O_2 に対する還元活性を全く示さないことを述べている。

第3章「Identification of genes related to polysulfide-dependent growth of *T. kodakarensis* by random mutagenesis」では、*T. kodakarensis* で確立されたトランスポゾン転移ゲノム DNA ライブラリーを用いたランダム変異法を用いて硫黄代謝変異体を単離し、その変異株を解析することで本菌における硫黄代謝機構を明らかにすることを試みている。96-well マイクロプレートを用いたスクリーニング法を確立し、ポリスルフィドを添加した培地での増殖能が欠失あるいは低下した変異株を複数取得したが、得られた変異株は S^0 添加培地では親株と同程度の増殖能を示し、ポリスルフィド添加による高 pH 条件に感受性の高い変異株であることを推定している。

第4章「Identification of genes related to elemental sulfur-dependent growth of *T. kodakarensis* by random mutagenesis」では、固体状の S^0 を添加した培地によるスクリーニング系を確立し、808 株のランダム変異体から S^0 依存増殖能が欠失あるいは低下した株を 7 株単離している。このうち、3 株は広基質特異性アミノトランスフェラーゼにトランスポゾンが挿入されたと同定している。 S^0 依存増殖時には培地中のペプチド/アミノ酸が炭素源およびエネルギー源となるが、アミノ基転移はアミノ酸代謝の初発であり、本菌が多数有するアミノトランスフェラーゼの中で S^0 依存増殖と共役するアミノトランスフェラーゼを初めて同定したと考察している。

第5章「General conclusions」では、本研究を総括し、今後の展望を述べている。

これを要するに、本論文は超好熱菌における硫黄還元酵素について解析し、またランダム変異ライブラリーからのスクリーニング法を確立して超好熱菌の硫黄依存増殖に重要な遺伝子を同定している。これらは超好熱菌の硫黄代謝についての基礎的な知見であることに加え、超好熱菌の利用に向けた改変を行う上で重要であり、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分な価値があると認められる。