

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学術)	氏名	LISA LISDIANA
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Response of deep-sea <i>Shewanella violacea</i> to acid stress (深海性細菌 <i>Shewanella violacea</i> の酸ストレスに対する応答)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教 授 三本木 至宏</p> <p>審査委員 教 授 太田 伸二</p> <p>審査委員 教 授 島本 整</p> <p>審査委員 准教授 船戸 耕一</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>ここに提出された論文は、深海性細菌 <i>Shewanella violacea</i> の酸ストレスに対する応答について、その解明を目指すものである。</p> <p><i>S. violacea</i> は、低温・高圧条件下で生育することができる細菌であり、由来する酵素も同様な条件下で機能することが予想されている。こうした酵素の産業利用が期待され、実際に、低温・高圧下での酵素特性が研究されている。しかし、遺伝子発現が変化することが予想される酸性ストレスに対する本菌の生理現象については未解明である。</p> <p>本論文は、以上の背景を踏まえた研究の成果を発表するものであり、下記より構成されている。</p> <p>第1章 Introduction(序論)</p> <p>本章では、研究の背景と動機が記述されている。</p> <p>第2章 Growth of <i>S. violacea</i> cells under various pH conditions(様々な pH 条件下における <i>S. violacea</i> の生育)</p> <p>本章では、<i>S. violacea</i> を pH4.5 から pH7.0 までの培地で生育させたときの特性について記載されている。具体的には、以上の pH 条件下で本菌が生育できるかどうか、及びその生育培地 pH が変化するかどうかを追っている。</p> <p>本章の結果から、本菌は pH5.0 でも生育することが分かり、その際、培地の pH は対数増殖後期では中性付近になっていた。この結果は、酸ストレス下に置かれた本菌が周囲の環境を中性化するメカニズムを持つことを示唆し、本章ではその可能性について考察されている。</p>			

第3章 Metabolite production of *S. violacea* cells grown at acidic and neutral pHs (酸性及び中性 pH で生育した *S. violacea* による代謝物生産)

本章では、*S. violacea* が酸条件下では中性条件と比べてどのような代謝物を生産するのかを明らかにすることで、酸素ストレスへの適応メカニズムを明らかにしようとしている。具体的には、本菌を pH5.0 と pH7.0 に固定した培地で 196 時間培養したときの代謝物を GC/MS で測定した。

本章の結果から、本菌は pH7.0 での培養時に比べて、pH5.0 では酪酸と 3-メチルブタン酸を有意に多く生産していることが明らかにされている。これらの有機酸が酸性条件下に適応した結果として生産されたと考察されている。

第4章 The expression level of genes related to organic acid production in *S. violacea* cells grown at acidic and neutral pHs (酸性及び中性 pH で生育した *S. violacea* による有機酸生産に関わる遺伝子発現レベル)

本章では、第 3 章で見出された酸性条件で高生産される 2 種の有機酸生成に関わる酵素遺伝子のトランスクリプトーム解析を行った。具体的には、本菌を pH5.0 と pH7.0 に固定した培地で 4 時間培養したときに生産される mRNA の種類と量を RNA-seq の手法で解析した。

本章の結果から、既知の酪酸生成系の酵素遺伝子群は、フルセットで発現していないが、3-メチルブタン酸生成に関わる酵素遺伝子の発現が pH7.0 に比べて pH5.0 の方が高発現することが明らかになった。これらの結果は、定量的 PCR によって裏付けられている。本章では、3-メチルブタン酸生成によってなぜ酸性ストレスに適応できるのか考察されている。

第5章 Transcriptome analysis of *S. violacea* genes at pH5.0 and 7.0 (pH5.0 及び 7.0 での *S. violacea* の転写物解析)

本章では、第 4 章で実施した RNA-seq の結果を網羅的に解析している。その結果、3-メチルブタン酸生成に関わる酵素遺伝子以外に多数の遺伝子発現が pH5.0 で増減していることが明らかにされた。これら遺伝子産物の生化学的な機能は未知であるが、酸性ストレス応答遺伝子としてリストアップすることを可能とした。

第6章 Conclusions and future plan (結論と将来計画)

本章では、第 2 章から第 5 章までの研究成果を踏まえて、*S. violacea* が酸性条件下でも生育して、その際に少なくとも 3-メチルブタン酸が生成されると結論された。今後の課題として、第 5 章で同定された遺伝子産物の生化学的・遺伝学的解明が必要なことが述べられている。

本研究では、低温・高圧環境に生育する *S. violacea* の新たな側面、pH に対する応答性についての知見が見出された。本論文は独創性の高いものと評価でき、微生物学分野の発展に寄与すると考えられる。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（学術）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。