

(別紙1)

論文内容の要旨

申請者氏名 辰巳 恭平

硫黄は全生命に必須な元素である。多くの微生物や植物は、動物にはない「硫黄同化能」を有しており、無機性の硫黄化合物（硫酸イオン、チオ硫酸イオンなど）から有機性の硫黄化合物（システイン、メチオニンなど）を合成できる。当研究室では現在までに、大腸菌やシアノバクテリアにおいてチオ硫酸イオンが一般的に微生物培養に用いられる硫酸イオンよりも好ましい硫黄源であることを示してきた。しかしながら、他の生物種においてチオ硫酸イオンが同化される経路や細胞機能に与える影響に関しては不明な点が多い。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*（以下、酵母）は生物学における真核細胞の優れたモデルであるとともに、製パン、酒類醸造、バイオエタノール生産などの発酵化学産業で中心的な役割を果たす重要な微生物である。一方で、酵母におけるチオ硫酸イオンの同化経路に関する知見は乏しいことから、本研究では、酵母のチオ硫酸同化経路の全容とその生理機能を明らかにすることを目的とした。

まず、チオ硫酸イオンを単一硫黄源として酵母を培養したところ、硫酸イオンを硫黄源とした際に比べてその生育が促進すること、細胞内の硫黄関連代謝産物が増加することが示された。次に、硫酸イオン同化経路を担う酵素の遺伝子破壊株を用いた解析から、チオ硫酸イオンは細胞内において亜硫酸イオンおよび硫化物イオンへと変換され、硫酸イオンの同化経路へと合流していることを見出した。これらの知見に基づき、チオ硫酸イオンから亜硫酸イオンおよび硫化物イオンへの変換を担う酵素として、チオ硫酸硫黄転移酵素（以下、ロダネーゼ）を予想し、遺伝子破壊株および大腸菌での異種発現系を用いた解析を行った、その結果、酵母においては少なくとも5種類のロダネーゼ（Rdl1, Rdl2, Tum1, Uba4, Ych1）がチオ硫酸イオンの同化に関与しており、その経路が重複している可能性が示された。そこで、ロダネーゼ遺伝子の二重破壊株を作製し、チオ硫酸イオンを単一硫黄源として培養したところ、チオ硫酸同化経路を担う主たるロダネーゼはRdl1とRdl2であることが示唆された。

チオ硫酸イオンの同化においては、硫酸イオンの同化時に必要な多段階の還元反応を省略することが可能になるため、硫黄同化に必要なエネルギーを節約できることが予想された。そこで、メタボローム解析を行ったところ、チオ硫酸イオンを硫黄源とした場合、細胞内の還元力と代謝フローが変化することが示唆された。これらの変化が酵母の細胞機能に及ぼす影響を検討したところ、エタノール発酵速度が有意に上昇するとともに、ストレス耐性が向上する傾向が見られた。また、チオ硫酸イオンを硫黄源とした場合に、培地中のグルコース枯渇時に硫化水素が生成することを見出した。

以上の結果から、酵母の硫黄同化経路に対する理解を深めるという生物学上の知見が得られただけでなく、酵母の硫黄代謝を改変することで、発酵生産性の向上に繋がる可能性を示すことができた。

(別紙2)

論文審査結果の要旨

申請者氏名 辰巳 恭平

多くの微生物は動物には存在しない「硫黄同化能」を有しており、無機性の硫黄化合物（硫酸イオン、チオ硫酸イオンなど）から有機性の硫黄化合物（システイン、メチオニンなど）を合成することができる。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*（以下、酵母）も他の微生物と同様に、硫黄同化能を有しており、硫酸イオンおよびチオ硫酸イオンを硫黄源として生育することが可能である。これまでに、酵母における硫酸イオンの同化経路はよく理解されているが、チオ硫酸イオンの同化経路については、知見が乏しい。酵母は生物学における真核細胞の優れたモデルであるとともに、製パン、酒類醸造、バイオエタノール生産などの発酵化学産業で中心的な役割を果たす微生物であることから、その代謝経路の解明は基礎・応用の両面から重要な意味を持つ。申請者は、酵母におけるチオ硫酸イオンの同化経路の解析、およびチオ硫酸同化経路が細胞機能に及ぼす影響の解析を行い、以下に示す新たな知見や重要な結果を得た。

- 1) チオ硫酸イオンを単一硫黄源として酵母を培養したところ、硫酸イオンと比較して生育が促進すること、および硫黄関連代謝産物が増加することを明らかにした。
- 2) チオ硫酸イオンの同化には、チオ硫酸硫黄転移酵素（ロダネーゼ）が関与することを見出し、その中でRdl1, Rdl2が主要な役割を担っていることが示された。
- 3) ロダネーゼを介した経路は、硫酸イオンの同化経路と比較して硫黄同化に必要なエネルギーを節約でき、このことが代謝フローに影響を与えることが示唆された。
- 4) チオ硫酸イオンを硫黄源とした際の代謝フローの変化により、エタノール生産速度が有意に上昇するとともに、ストレス耐性が向上する傾向が見られた。
- 5) チオ硫酸イオンを硫黄源とした際には、グルコース枯渇時に硫化水素が発生することが明らかになり、硫黄と炭素のクロストークの存在が示唆された。

これらの結果から、酵母におけるチオ硫酸イオンの同化経路にはロダネーゼを介した経路が関与し、チオ硫酸イオンがロダネーゼによって亜硫酸イオンおよび硫化物イオンへ変換され、硫酸イオンの同化経路へ合流することを明らかにした。また、チオ硫酸イオンを硫黄源とした際には、細胞内の代謝フローが変化することで、生育速度および発酵速度が有意に上昇し、ストレス耐性が向上する傾向が見られたことから、酵母の細胞機能においてチオ硫酸イオンは好ましい硫黄源であると結論付けた。これらの結果は、硫黄代謝と炭素代謝のクロストークなどに関する新しい分子機構の発見や硫黄代謝の改変による有用酵母の育種への応用に繋がる可能性がある。

以上のように、本論文はこれまで解析が不十分であった酵母のチオ硫酸イオン同化経路を明らかにするとともに、同経路が細胞機能に及ぼす影響を解析したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。