

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Bioconversion of Agarose in Red Seaweed by Engineered Microbial Cells for the Production of Bioethanol
著者(和文)	ZAINULKAMALSYAZNI
Author(English)	Syazni Zainul Kamal
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10251号, 授与年月日:2016年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中崎 清彦,日野出 洋文,丹治 保典,江頭 竜一,吉村 千洋
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10251号, Conferred date:2016/3/26, 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		Syazni Zainul Kamal	
		氏名		職名		氏名	職名
論文審査 審査員	主査	中崎 清彦		教授	審査員	吉村 千洋	准教授
	審査員	日野出 洋文		教授			
		丹治 保典		教授			
		江頭 竜一		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Bioconversion of agarose in red seaweed by engineered microbial cells for the production of bioethanol (遺伝子組換え微生物を用いたバイオエタノール生産のための紅藻中アガロースの生物変換)」と題し、英文で書かれており、6章からなっている。

第1章「Introduction」では、バイオエタノール生産の原料となるバイオマスとしての紅藻の利用において、紅藻に含まれる多糖であるガラクトランを利用することの重要性、および組換え微生物を用いてガラクトランの物質変換をすることの新規性および有用性についてまとめている。

第2章「Literature review」では、紅藻中のガラクトランを低分子化することで酵母によるエタノール発酵に利用可能な単糖を得る手法について、現在までにおこなわれてきた研究をまとめ、本研究が解決すべき課題を明らかにしている。

第3章「Construction of recombinant yeast that secretes α -neogaroooligosaccharide hydrolase for the production of ethanol from neogaroobiose」では、紅藻中のガラクトランの分解で生じる neogaroobiose をガラクトースとアンヒドロガラクトースに加水分解する酵素 α -agarase をコードする遺伝子を酵母 *Saccharomyces cerevisiae* に導入し、得られた組換え *S. cerevisiae* を用いた neogaroobiose からのエタノール生産を可能にすることを目的としている。細菌 *Cellvibrio* sp. OA-2007 のゲノムより α -agarase 遺伝子を同定し、また、 α -agarase 遺伝子を *S. cerevisiae* に組換えた時に菌体外に α -agarase を分泌させるために必要な遺伝子として、酵母 *S. cerevisiae* 由来のシグナルペプチド遺伝子である α -mating factor を α -agarase 遺伝子と繋げて *S. cerevisiae* に導入した組換え酵母 YPH499/pTEF-MF-agaNash の作成に成功し、得られた組換え酵母において α -agarase が生産されることを確認している。さらに得られた組換え酵母 YPH499/pTEF-MF-agaNash では、生産された α -agarase の大部分が菌体内に留まっていることを明らかにし、 α -agarase の菌体外への分泌量を上げるため、*Saccharomyces diastaticus* の STA1 遺伝子に含まれるシグナルペプチド遺伝子および T-S 領域を利用している。 α -agarase 遺伝子とシグナルペプチド遺伝子および T-S 領域を繋げて *S. cerevisiae* に導入した新たな組換え酵母 YPH499/pTEF-STA1SP-agaNash の作成に成功し、YPH499/pTEF-STA1SP-agaNash が著量の α -agarase を菌体外に分泌することを確認している。さらに neogaroobiose からの組換え酵母を用いたエタノール生産にも成功している。

第4章「Efficient production of bioethanol from agarose by using recombinant *Brevibacillus* and yeast」ではアガロースをオリゴ糖に分解する酵素 β -agarase をコードする遺伝子を *Brevibacillus choshinensis* SP3 に組換えて β -agarase の発現量を高くし、さらに β -agarase を菌体外に分泌させてアガロースからオリゴ糖への分解プロセスを効率化することで、得られた *B. choshinensis* SP3 の組換え体と第3章で構築した組換え酵母を用いたアガロースからの効率的なエタノール生産を可能にすることを目的としている。OA-2007 株のゲノムより取得した β -agarase をコードする遺伝子 *agaA* をシグナルペプチドとなげ、*B. choshinensis* SP3 に導入した組換え体の取得に成功している。また *B. choshinensis* SP3 の組換え体から β -agarase、AgaA が分泌されること、分泌された AgaA により agarose が分解されてオリゴ糖が生成することを確認している。さらに *B. choshinensis* SP3 の組換え体と第3章で構築した組換え酵母を用いた同時糖化発酵により agarose からエタノールを効率的に生産することに成功している。

第5章「Complete bioconversion of oligosaccharide to neogaroobiose for higher bioethanol production」では、アガロースの β -agarase、AgaA による分解で生じるオリゴ糖の neogaroobiose への分解効率を上げることで、アガロースからのエタノール生産を効率化することを目的としている。OA-2007 株のゲノム中に新規な β -agarase 遺伝子、*agaMY* を同定し、この *agaMY* を大腸菌に組換えて発現させたところ、*agaMY* より発現した β -agarase、AgaMY はオリゴ糖である neogaroetetraose および neogaroohexaose を加水分解して neogaroobiose を生成することを確認している。第4章で構築した組換え *B. choshinensis* SP3 を用いてアガロースの分解をおこなったのち、さらに組換え大腸菌より粗生成した AgaMY で処理したところ、neogaroobiose の濃度を2倍に上げることに成功し、結果として組換え *B. choshinensis* SP3 および組換え酵母を用いたアガロースからのエタノール生産の効率化を成し遂げている。

第6章「General conclusions」では、本論文で得られた結果をまとめている。

以上を要するに、本論文は、現在バイオエタノール生産の原料として最も有望とされているバイオマスである海草の利用において、エタノール生産の効率を上げるために必須であるグルカン以外の糖の利用に重要な新たな物質変換の手法を提案したものであり、学術上高く評価される。よって、本論文は博士(学術)の論文として価値が十分あるものと認められる。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。