

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |                                                                                                                                                                            |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 題目(和文)            | 超好熱アーキアThermococcus kodakarensisにおける水素発生代謝の解析と改変                                                                                                                           |
| Title(English)    | Analysis and modification of hydrogen-evolving metabolisms in hyperthermophilic archaeon Thermococcus kodakarensis                                                         |
| 著者(和文)            | 野原健太                                                                                                                                                                       |
| Author(English)   | Kenta Nohara                                                                                                                                                               |
| 出典(和文)            | 学位:博士(工学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第10175号,<br>授与年月日:2016年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:福居 俊昭,中村 聡,丹治 保典,和地 正明,平沢 敬                                                      |
| Citation(English) | Degree:,<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第10175号,<br>Conferred date:2016/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>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 | 野原 健太 |
|-------------|-----|-------|---------|-------|
| 論文審査<br>審査員 |     | 氏 名   | 職 名     |       |
|             | 主査  | 福居 俊昭 | 教授      | 平沢 敬  |
|             | 審査員 | 中村 聡  | 教授      |       |
|             |     | 丹治 保典 | 教授      |       |
|             |     | 和地 正明 | 教授      |       |

## 論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「超好熱アーキア *Thermococcus kodakarensis* における水素発生代謝の解析と改変」と題し、7 章より構成されている。

第 1 章「序論」では本研究の背景として、次世代エネルギーとしての水素、バイオ水素生産、超好熱性アーキア、*Thermococcales* 目超好熱菌における炭素代謝と水素発生代謝について概説し、本研究の意義と目的について述べている。

第 2 章「*Thermococcus kodakarensis* におけるピルビン酸/アミノ酸酸化代謝の解析」では、*T. kodakarensis* の水素発生代謝における基質および生成物の定量法を確立し、水素発生条件におけるマスバランスを解析している。その結果、水素発生に利用される還元型フェレドキシン (Fd) はピルビン酸酸化に加えてアミノ酸酸化によっても供給され、その寄与は約 2:1 であることを見出している。また細胞質ヒドロゲナーゼ (Hyh) の遺伝子破壊により水素取り込み能が欠失し、基質消費量あたりの水素収率が 32%から 61%に顕著に増加することを示している。

第 3 章「種々の培養条件における *Thermococcus kodakarensis* ピルビン酸/アミノ酸酸化代謝のマスバランス解析」では、マスバランス解析より水素発生条件において見られた過剰な酢酸生成について検討し、この酢酸が栄養豊富培地中の未知成分に由来することを示している。

第 4 章「*Thermococcus kodakarensis* におけるピルビン酸酸化経路の解析」では、本菌においてピルビン酸酸化を担う可能性のあるピルビン酸: Fd 酸化還元酵素 (Por)、イソ吉草酸:Fd 酸化還元酵素 (Vor)、ピルビン酸-ギ酸リアーゼ (Pfl)の役割について、遺伝子破壊とマスバランス解析により検討している。結果として、Por 存在下では Pfl と Vor のピルビン酸酸化への寄与はほとんどないこと、分岐鎖アミノ酸酸化は Vor によって特異的に担われていることを明らかにしている。また、*hyh*・*vor* 二重欠失によって水素発生収率を 72%に向上させたと述べている。

第 5 章「*Thermococcus kodakarensis* におけるアミノ酸酸化経路の解析」では Fd 依存酸化還元酵素パラログの機能解析を行い、各種アミノ酸に由来する 2-オキソ酸の酸化は Vor (分岐アミノ酸由来)、インドール酢酸:Fd 酸化還元酵素 I (Ior1) (芳香族アミノ酸由来)、2-オキソグルタル酸:Fd 酸化還元酵素 (Ogor) (グルタミン酸・セリン由来) の 3 つの酵素によって担われ、Ior2 と機能不明 Fd 依存酸化還元酵素 Xor は関与していないことを明らかにしている。

第 6 章「*Thermococcus kodakarensis* への TCA サイクル関連酵素遺伝子の導入」では、TCA サイクルが不完全な *T. kodakarensis* に近縁の超好熱アーキア *Pyrococcus furiosus* 由来のクエン酸シンターゼ、アコニターゼ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼをコードする遺伝子クラスター (*Pf*-TCA) を導入し、還元型 Fd 供給の強化による水素発生能の向上を試みている。*Pf*-TCA 導入とアセチル-CoA シンターゼ遺伝子破壊により TCA サイクル代謝物であるコハク酸の生成量が増加し、水素収率がやや向上することを見出している。さらにメタボローム解析を行い、作製した組換え株では菌体内のクエン酸濃度が増加していることなど、*Pf*-TCA 導入により TCA サイクルが機能していることを強く示唆する結果を得ている。

第 7 章「総括」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水素発生代謝について解析し、プロトンの還元に必要な還元力を供給するアミノ酸/ピルビン酸酸化経路の詳細とその改変による水素収率の向上を達成している。これらは超好熱菌の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。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(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。