

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	高度好塩性古細菌 <i>Haloarcula japonica</i> が生産する多分岐グルカンとその生合成に關与する GlgC ホモログの研究
Title(English)	
著者(和文)	末田 凜
Author(English)	Rin Sueda
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12039号, 授与年月日:2021年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:八波 利恵,和地 正明,福居 俊昭,蒲池 利章,平沢 敬,中村 聡
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12039号, Conferred date:2021/6/30, 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

(博士課程)

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		末田 凜	
論文審査 審査員		氏 名		職 名			
	主査	八波 利恵		准教授		平沢 敬	准教授
	審査員	和地 正明		教授		中村 聡	学外審査員
		福居 俊昭		教授			
		蒲池 利章		教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「高度好塩性古細菌 *Haloarcula japonica* が生産する多分岐グルカンとその生合成に関与する GlgC ホモログの研究」と題し、5 章より構成されている。

第 1 章「序論」では、でんぷんとグリコーゲンの性質と工業応用、高度好塩性古細菌 *Haloarcula japonica* とそれが生産するグリコーゲン様多糖、多分岐グルカンとその生合成系について概説し、本研究の目的と意義について述べている。

第 2 章「*Ha. japonica* 野生株由来多分岐グルカンの解析」では、*Ha. japonica* 野生株から多分岐グルカン抽出し、各種解析を通じて、その構造を一般的なグリコーゲンであるカキ由来グリコーゲンと比較している。多分岐グルカンの分岐鎖を枝切り酵素を用いて遊離させ、鎖長分布を詳細に解析した結果、多分岐グルカンはグリコーゲンに比して平均的に短い鎖長のグルカン鎖から構成されることを明らかにしている。また、¹H-NMR を用いて分岐度の解析を行った結果、多分岐グルカンはグリコーゲンに比して分岐度が非常に高いことを示している。さらに、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて分子量測定を試みた結果、多分岐グルカンはグリコーゲンに比して約 2 倍の分子量をもつことを明らかにしている。以上の結果から *Ha. japonica* が生産する多分岐グルカンは、新規なグルカンであると述べている。

第 3 章「*Ha. japonica* 由来 GlgC ホモログの組換え酵素の性質検討」では、多分岐グルカンの生合成においてその前駆体合成を担うと考えられる、*c1183* 遺伝子がコードする GlgC ホモログ HJGlgC について、組換え酵素の親株による発現と精製、性質検討を行っている。組換え HJGlgC 精製標品の基質特異性を調べた結果、GTP とグルコース-1-リン酸を基質として用いた際のみ顕著な活性を示す新規な “GDP-グルコースピロホスホリラーゼ”であることを明らかにしている。また、組換え HJGlgC は反応至適塩濃度を 2.60 M KCl および 3.15 M NaCl にもつ好塩酵素であることを示している。さらに、反応至適 Mg²⁺ 濃度は 10 mM、反応至適温度は 50℃、反応至適 pH は pH 8.0 であると述べている。

第 4 章「*c1183* 遺伝子破壊株を用いたグルカンの解析」では、HJGlgC の多分岐グルカン生合成における役割を明らかにするために、HJGlgC をコードする *c1183* 遺伝子の破壊株を調製し、野生株と破壊株が生産するグルカンの解析を行っている。その結果、*c1183* 遺伝子破壊株においてもグルカンの生産が確認され、*Ha. japonica* では *c1183* 遺伝子に依らずグルカンの合成が行われることを示している。また、野生株と *c1183* 遺伝子破壊株のグルカン生産量を比較したところ、有意差がないことを明らかにしている。一方で、破壊株に *c1183* 遺伝子発現型プラスミドを導入した *c1183* 遺伝子補完株では野生株に比べ、多量にグルカンが生産されていることを明らかにしている。これらの結果より、*c1183* 遺伝子が多分岐グルカン生合成へ関与している可能性を指摘している。また、*c1183* 遺伝子破壊株および補完株が生産するグルカンの分岐鎖を調べた結果、両株ともに野生株の多分岐グルカンと同様な分岐鎖をもつことも示している。すなわち、*c1183* 遺伝子は *Ha. japonica* の多分岐グルカン生合成には関与するものの、その分岐鎖長には影響しないと推察している。また、浸透圧ショックにおける *Ha. japonica* の増殖と多分岐グルカン生合成への影響について、野生株と *c1183* 遺伝子破壊株を用いて調べている。その結果、低浸透圧ショックを与えた場合、野生株では一時的な増殖阻害がみられたものの、*c1183* 遺伝子破壊株では変化はみられず、両者が異なる挙動を示すこと明らかにしている。これより、低浸透圧下での多分岐グルカンの生合成は本菌の生育に不利に働くと推察している。

第 5 章「総括」では、本論文を総括し、今後の展望について述べている。

以上を要するに、本論文は *Ha. japonica* が生産する新規のグルカンである多分岐グルカンの抽出を行い、各種解析によってその構造を明らかにするとともに、その生合成において前駆体合成に関与すると考えられた *c1183* 遺伝子がコードする酵素の性質検討と当該遺伝子がグルカン生産に果たす役割を解明したものであり、工学上ならびに工業上に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。