

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Studies on the Regulatory Mechanism of Glutamate Metabolism in <i>Corynebacterium glutamicum</i>
著者(和文)	Tanyanut Supkulsutra
Author(English)	Tanyanut Supkulsutra
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9298号, 授与年月日:2013年9月25日, 学位の種別:課程博士, 審査員:和地 正明,中村 聡,丹治 保典,福居 俊昭,小倉 俊一郎
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9298号, Conferred date:2013/9/25, 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		Tanyanut Supkulsutra	
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	和地正明	教授	審査員	小倉俊一郎	准教授
	審査員	中村聡	教授			
		丹治保典	教授			
福居俊昭		准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Studies on the regulatory mechanism of glutamate metabolism in *Corynebacterium glutamicum* (*Corynebacterium glutamicum* におけるグルタミン酸代謝の制御機構の研究)」と題し、英文で書かれ5章よりなっている。

第1章「Introduction」では、*Corynebacterium glutamicum* の細菌学的な特徴とグルタミン酸生成経路の制御機構について概説している。さらに *C. glutamicum* によるグルタミン酸の発酵生産機構に関するこれまでの研究、グルタミン酸排出担体である NCgl1221 メカノセンシティブチャネルの発見の経緯とそのグルタミン酸生産における役割について概説している。これらをふまえ、本研究の目的と意義について述べている。

第2章「Screening for candidate transcriptional regulators involved in glutamate metabolism」では、グルタミン酸代謝を制御する転写因子を探索する手法について述べている。野生株はグルタミン酸を生産できないが、グルタミン酸排出チャンネルが常に開口しているような NCgl1221 変異株がグルタミン酸を生産するような培養条件でマイクロアレイ解析を行なった結果、変異株で顕著に発現が低下している転写因子として LldR (NCgl2814) と NCgl1386 を見出している。

第3章「Roles of the transcriptional regulator LldR (NCgl2814)」では、第2章で見出された転写因子の一つ LldR について、グルタミン酸生産における機能を解析している。これまで LldR は、L-乳酸の資化に関与する *lldD* と合成に関与する *ldhA* の両方の発現を抑制するリプレッサーとして報告されていた。そこでまず LldR のグルタミン酸代謝における機能を解析するために、LldR の過剰発現株と欠損株を構築している。これらの株を用いて、グルタミン酸生産の誘導条件のひとつであるピオチン制限条件での培養において、LldR の過剰発現と欠損が増殖とグルタミン酸生産に及ぼす効果について調べている。その結果、LldR 過剰発現株ではグルタミン酸の生産が有意に低下し、その一方で副産物である L-乳酸が蓄積していることを見出している。さらに定量リアルタイム-PCR により、ピオチン制限条件において LldR は *lldD* の転写を抑制するが、*ldhA* の転写は抑制しないことを明らかにしている。これより、LldR は乳酸代謝の制御を介して、グルタミン酸生産条件で蓄積するピルビン酸を一時的に乳酸に変換してプールすることにより解糖系の停滞を防ぎ、グルタミン酸生産を円滑に行なう役割をしていると推測している。これらの知見をもとに、グルタミン酸の生産性を向上させるために乳酸代謝を改変することの可能性について述べている。

第4章「Roles of the transcriptional regulator NCgl1386」では、もう一つの転写因子 NCgl1386 の機能を解析するためにその過剰発現株と欠損株を構築している。さらに、NCgl1386 とオペロンを形成していると思われる NCgl1387 についても過剰発現株と欠損株を構築している。まず RT-PCR により、NCgl1385、NCgl1386、NCgl1387 の3遺伝子がオペロンを形成していることを明らかにしている。次に、構築した過剰発現株と欠損株を用いた定量リアルタイム-PCR により、NCgl1386 は NCgl1385-NCgl1386-NCgl1387 オペロンの発現を正に制御する転写因子であることを見出している。一方 NCgl1387 は、NCgl1385-NCgl1386-NCgl1387 オペロンの発現を負に制御しており、RNase モチーフを持つことから転写産物を分解していると推測している。続いてピオチン制限条件での培養において、過剰発現と欠損が増殖とグルタミン酸生産に及ぼす効果について調べている。その結果、NCgl1386 と NCgl1387 の過剰発現はいずれもピオチン制限条件での増殖を阻害し、グルタミン酸生産を顕著に抑制することを見出している。これより、NCgl1386 と NCgl1387 は、転写因子と RNase の組み合わせにより遺伝子発現を制御するユニークな制御系を構築しており、その制御下にグルタミン酸生産に関わる因子があると推測している。

これを要するに、本論文は発酵産業上重要な微生物である *C. glutamicum* のグルタミン酸生産に関与する2つの転写因子の機能を解析し、その発酵生産への応用の可能性を示したものであり、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に価値があるものと認められる。