

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	クラスIVポリヒドロキシアルカン酸重合酵素のアルコールシス分解能に関する研究
Title(English)	Study on Alcoholic Cleavage of Polyhydroxyalkanoate Chains by Class IV Synthases
著者(和文)	百武真奈美
Author(English)	Manami Hyakutake
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9495号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:柘植 丈治,阿部 英喜,原 亨和,福居 俊昭,木賀 大介
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9495号, Conferred date:2014/3/26, 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		百武 真奈美	
		氏名	職名		氏名	職名
論文審査 審査員	審査員	主査	柘植 丈治	准教授	木賀 大介	准教授
			阿部 英喜	教授		
			原 亨和	教授		
			福居 俊昭	准教授		

論文審査の要旨 (2000字程度)

本論文は「Study on Alcoholic Cleavage of Polyhydroxyalkanoate Chains by Class IV Synthases」(クラス IV ポリヒドロキシアルカン酸重合酵素のアルコールシス分解能に関する研究)と題し英文で書かれ、5章から構成されている。

第1章「General Introduction」では、本研究の背景として、生分解性プラスチック素材である微生物ポリエステルの特徴や生産方法について概観している。また、微生物ポリエステルの高性能化において、分子量および末端構造制御の重要性について言及し、生合成時における分子量および構造制御の方法論について述べている。そして本論文の目的として、クラス IV 重合酵素に見出された新規な分子量低下現象の作用機構を解明し、それを応用したポリエステルの分子量および末端構造制御法の確立と述べている。

第2章「Cloning and Characterization of Class IV Synthases from Two *Bacillus* Strains」では、クラス IV 重合酵素の特徴化を行い、*Bacillus cereus* YB-4 由来の重合酵素 (PhaRC_{YB4}) を用いた場合において、培養経過に伴う特異的なポリエステル分子量の低下現象を見出している。この分子量低下は、PhaRC_{YB4} の触媒作用によるものであり、速度論的な解析からエンド型分解によるものと考察している。この分子量低下現象は、大腸菌を生産宿主とした場合には観察されるのに対して、他の宿主では観察されなかったことから、PhaRC_{YB4} の分解能発現には何らかの必要条件が存在することを明らかにしている。

第3章「Elucidation of the Mechanisms for Unusual Molecular Weight Change」では、PhaRC_{YB4} に見られる特異な分子量低下現象の解明に取り組んでいる。まず、核磁気共鳴分光法により低分子量化したポリエステルの末端構造を解析し、カルボキシ基末端がエチルエステル化されていることを明らかにしている。このことから、PhaRC_{YB4} が加水分解ではなく、アルコールシス分解によりポリエステルを低分子量化する可能性を示唆した。そして、培養系中へのエタノール添加によりアルコールシス分解を誘導可能であることを実験的に示し、特異な分子量低下現象は、PhaRC_{YB4} が宿主大腸菌により生産されたエタノールを用いたアルコールシス分解の結果であると結論付けている。一方で、弱いながら他のクラス IV 重合酵素においてもアルコールシス分解能を確認し、この活性はクラス IV 全体の特徴である可能性を示している。

第4章「Mechanism of Alcoholysis Reaction by PhaRC_{YB4} and Diversity of Available Alcohols」では、PhaRC_{YB4} のアルコールシス能発現に関わるアミノ酸残基の特定および利用可能なアルコール種について調査している。アミノ酸残基の特定は一部のアミノ酸を置換した変異型酵素を作成し、ポリエステル分子量への影響を調査することで行っている。その結果、ポリエステル重合能に関与する触媒三残基 (Cys¹⁵¹、Asp³⁰⁶、His³³⁵) がアルコールシス分解能においても重要な役割を担うことを見出している。特に Cys¹⁵¹ については、セリン残基に置換した場合でもアルコールシス分解能が維持されることを示している。また PhaRC_{YB4} はアルコールシス反応の基質としてエタノール以外にも鎖長の異なる直鎖アルコール、ポリエチレングリコールなどの多価アルコールおよび片末端に官能基を有するアルコールを利用できることを明らかにしている。これより PhaRC_{YB4} によるアルコールシス反応は、導入するヒドロキシ化合物を選択することで、任意の末端構造を作り出せることを示し、ポリエステルの物性改善に新たなアプローチを提供している。

第5章「Summary」では、本研究で得られた結果を総括し、今後の展望を述べている。これを要するに本論文は、実用的な環境低負荷型高分子材料を創成する観点から、クラス IV 重合酵素が有するアルコールシス活性に着目して研究を行い、その作用機構を解明し、これを利用することで分子量と末端構造を制御する方法論を確立したものであり、工学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ものと認められる。