

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	アミノ酸由来側鎖分岐型ユニットを含むポリヒドロキシアルカン酸の生合成
Title(English)	Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoate Containing Branched Side-Chain Unit Derived from Amino Acid
著者(和文)	雑賀あずさ
Author(English)	Azusa SAIKA
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9493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9493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		雑賀 あずさ	
		氏名	職名		氏名	職名
論文審査 審査員	主査	柘植 丈治	准教授	審査員	木賀 大介	准教授
	審査員	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「Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoate Containing Branched Side-Chain Unit Derived from Amino Acid」(アミノ酸由来側鎖分岐型ユニットを含むポリヒドロキシアルカン酸の生合成)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、生分解性素材として利用可能な微生物ポリエステルの特徴について述べている。また、微生物ポリエステルの課題である高物性化と低コスト化について言及し、その解決策として、微生物代謝改変の有用性について論じている。そして本論文の目的として、3-ヒドロキシ-4-メチル吉草酸 (3H4MV) ユニットを含む高性能ポリエステルを、前駆体物質を使用せずに微生物合成する方法論の確立と述べている。

第2章「Enhanced 3H4MV Biosynthesis by Engineering Amino Acid Metabolic Pathway of *Ralstonia eutropha*」では、3H4MV 生合成とアミノ酸代謝の関連に着目し、分岐アミノ酸の 3H4MV 増加効果について検証している。各分岐アミノ酸を糖質と合わせて組換え *R. eutropha* に与えたところ、ロイシン添加の際に 3H4MV 分率が糖質のみの約 2 倍になることを示した。この結果を受け、ランダム変異導入により作成したロイシンアナログ耐性株を糖質単一条件下で培養し、耐性株のひとつである 1F2 株が 3H4MV 分率の増加した共重合体を生合成することを示し、ロイシン過剰条件下において *R. eutropha* の 3H4MV 生合成が強化されることを明らかにしている。

第3章「Elucidation of 3H4MV Biosynthesis Pathway by Genome Sequence of Mutant Strain 1F2」では、前章で得られた高 3H4MV 分率変異株 1F2 のゲノム解読を行い、変異箇所の特定による 3H4MV 生合成経路の推定を行っている。変異株 1F2 と親株のゲノム解読の結果より、変異株 1F2 では、分岐アミノ酸合成経路の最初に働く酵素 IlvH に変異が導入されていることを確認している。IlvH はフィードバック阻害によりバリン合成量を調節していることから、3H4MV 生合成とバリン代謝経路の関連が示唆され、3H4MV はバリン代謝経路の中間体であるイソブチリル CoA とアセチル CoA の縮合により合成されているとの仮説を立てている。この仮説に基づき、共重合体中の 3H4MV 分率を増加させるべく、イソブチリル CoA とアセチル CoA の縮合に関わる酵素を変異株 1F2 内で過剰発現させ、糖質単一炭素源から親株の約 3 倍の 3H4MV 分率を示す共重合体の生合成に成功している。一方、ロイシンの過剰添加において *R. eutropha* の 3H4MV 生合成が強化されるのは、ロイシン合成経路にフィードバック阻害をかけることでバリン代謝経路の流束を増加させ、ひいては 3H4MV 合成を促進したものと考察している。

第4章「Construction of Artificial 3H4MV Biosynthesis Pathway Using Leucine Metabolism-Related Enzymes from *Clostridium difficile*」では、これまでとは別のアプローチとして、外来遺伝子を用いた人工的 3H4MV 生合成経路の構築を試みている。偏性嫌気性細菌 *Clostridium difficile* は、ロイシン分解経路の過程で、3H4MV の前駆体である 4-メチル-2-ペンテノイル CoA を合成する。これに関わる 5 つの *C. difficile* 由来ロイシン代謝酵素遺伝子群とポリエステル合成酵素遺伝子群を導入した組換え大腸菌を作成し、ロイシンから 3H4MV を生合成する経路を構築している。

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、微生物代謝に着目し、分岐アミノ酸の生合成経路を改変することで、実用性の高いポリエステルを合成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。