

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |   |
|-------------------|---|
| 題目(和文)            |   |
| Title(English)    | Study on Activity Modulation of Polyhydroxyalkanoate Synthases by Amphiphilic Molecules   |
| 著者(和文)            | 牛丸和乗  |
| Author(English)   | Kazunori Ushimaru   |
| 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9821号,<br>授与年月日:2015年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:柘植 丈治,阿部 英喜,原 亨和,田中 寛,福居 俊昭  |
| Citation(English) | Degree:.,<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第9821号,<br>Conferred date:2015/3/26,<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  |

(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 | 牛丸 和乗 |    |
|-------------|-----|-------|---------|-------|----|
| 論文審査<br>審査員 |     | 氏名    | 職名      | 氏名    | 職名 |
|             | 主査  | 柘植 丈治 | 准教授     | 福居 俊昭 | 教授 |
|             | 審査員 | 阿部 英喜 | 教授      |       |    |
|             |     | 原 亨和  | 教授      |       |    |
| 田中 寛        |     | 教授    |         |       |    |

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Study on Activity Modulation of Polyhydroxyalkanoate Synthases by Amphiphilic Molecules」(両親媒性分子によるポリヒドロキシアルカン酸重合酵素の活性調節に関する研究)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、界面活性剤などの両親媒性分子がポリエステル重合酵素(PhaC)の基質消費速度を向上させることについて言及し、これらの作用機構を解明するうえでインビトロ実験系が有用であることを述べている。そして本論文の目的として、両親媒性分子がPhaC活性化因子として機能するかを検証するために、界面活性剤および両親媒性タンパク質がPhaCによる重合反応にどのような影響を与えるのかをインビトロ系にて調査し、インビボ系との対比を行うことと述べている。

第2章「Activation of Polyhydroxyalkanoate Synthase by Detergents and Its Application for Kinetic Analysis」では、*Ralstonia eutropha*由来重合酵素(PhaC<sub>Re</sub>)による重合反応時に、界面活性剤が与える影響をインビトロ系により調査している。先行研究においてHecamegと呼ばれる界面活性剤によるPhaC<sub>Re</sub>の基質消費速度向上効果が報告されているが、本研究においては、Hecameg以外の界面活性剤においても同様に基質消費速度が向上することを観察している。これらの結果はHecamegの分子構造そのものではなく、両親媒性を有する分子が広くPhaCの基質消費速度を向上させることを示唆するものである。また、この知見を反応初速度の算出に応用し、PhaC<sub>Re</sub>に対する種々の速度論パラメータを決定している。さらには、基質誘導体を用いた速度論解析を行い、PhaC<sub>Re</sub>がモノマー構造認識時に3'位リン酸基との相互作用で酵素-基質複合体を安定化していることを明らかにしている。

第3章「A Novel Function of Phasin Proteins as a Modulator of PHA Synthases Activity」では細胞内に存在する両親媒性分子としてポリエステル顆粒結合タンパク質(PhaP)に着目し、この分子がPhaCの活性化因子として機能するかをインビトロおよびインビボの両実験から評価している。*Aeromonas caviae*由来の重合酵素(PhaC<sub>Ac</sub>)、精製したPhaP(*A. caviae*由来PhaP<sub>Ac</sub>または*R. eutropha*由来PhaP<sub>1Re</sub>)および化学合成モノマーを用いたインビトロ反応を行い、その結果として、PhaP添加濃度に応じて基質消費速度が向上することを観察している。一方で、重合酵素をPhaC<sub>Re</sub>に変更して行った反応では、PhaC<sub>Ac</sub>とは対照的に、PhaP添加濃度に応じた基質消費速度の減少を観察している。この基質消費速度調節効果が細胞内でも機能しているのかを検証し、PhaPによる重合酵素活性の低下はインビトロ系のみならず特有な現象であるのに対して、活性化効果はインビボ系でも観察されることを示している。これらの結果を総合して、両親媒性分子であるPhaPは、PhaC<sub>Ac</sub>に対する活性化剤またはPhaC<sub>Re</sub>に対する可溶化剤として機能することを提案している。

第4章「Enhanced Accumulation of Polyhydroxybutyrate in *Escherichia coli* via Control of Phasin Expression by Gene Mutation」では、変異体PhaP<sub>Ac</sub>によるポリエステル高生産化機構の解析を行っている。インビボ解析により、PhaP<sub>Ac</sub>変異体保有株では*phaPCJ*オペロン全体の発現量が増加していることを明らかにしている。また、これにより野生型に比べて10倍のポリエステル高蓄積化が可能であることを示している。このように、PhaP改変によるポリエステル高生産化という新しいアプローチを提案している。

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、重合酵素の活性化剤として両親媒性物質に着目して研究を行い、その作用機構の一端を解明し、これを利用することで微生物ポリエステルを高生産化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。