

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	水素細菌による従属栄養条件でのバイオポリエステル生合成における補充経路およびカルビン回路の機能解析
Title(English)	Functional analysis of anaplerotic pathway and Calvin cycle under heterotrophic biopolyester synthesis in H ₂ -oxidizing bacterium <i>Ralstonia eutropha</i>
著者(和文)	清水理恵
Author(English)	Rie Shimizu
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9804号, 授与年月日:2015年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:福居 俊昭,中村 聡,和地 正明,平沢 敬,柘植 丈治
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9804号, Conferred date:2015/3/26, 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

(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	清水 理恵	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	福居俊昭	教授	柘植丈治	准教授
	審査員	中村 聡	教授		
		和地正明	教授		
平沢 敬		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「水素細菌による従属栄養条件でのバイオポリエステル生合成における補充経路およびカルビン回路の機能解析」と題し、7章より構成されている。

第1章「序論」では本研究の背景として、現代の石油合成プラスチックによる環境問題とバイオプラスチックの研究開発動向、バイオポリエステルであるポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) の生合成、代表的な PHA であるポリ(3-ヒドロキシブタン酸) [P(3HB)] 生産菌である水素細菌 *Ralstonia eutropha* についての先行研究を概説し、本研究の意義と目的について述べている。

第2章「*Ralstonia eutropha* H16 株の RNA-シークエンシングによるトランスクリプトーム解析」では、フルクトースを炭素源として生育した *R. eutropha* H16 株 (野生株) について RNA-シークエンシング解析を行い、増殖期・P(3HB)生合成期・定常期での転写量の比較によって各フェーズにおける代謝状態の変動について知見を得ている。特に、フルクトース炭素源とした条件にも関わらず、脂肪酸 β -酸化系遺伝子群やカルビン-ベンソン (CBB) サイクル遺伝子群 (*cbb* オペロン) の転写が P(3HB)生合成期に増加することを見出している。

第3章「*Ralstonia eutropha* における補充経路の改変とその P(3HB)生合成への影響」では、*R. eutropha* H16 株においてホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (Ppc) が主要な補充経路酵素であることを示している。さらに Ppc 欠損株は窒素源十分条件においても P(3HB)を高い蓄積率で生合成することを見出し、その理由として Ppc 欠損により緊縮応答が常時誘発されていると考察している。

第4章「*Ralstonia eutropha* 従属栄養 P(3HB)生合成条件における CO₂ 固定経路の機能解明」では、従属栄養条件の *R. eutropha* において“不必要に”発現した CBB サイクルの機能解明を行っている。すなわち、グルコース資化性改変株 H16G 株について [1-¹³C]₁-グルコースを炭素源とした二段培養を行い、[1-¹³C]₁-グルコース代謝での脱炭酸により生じた ¹³CO₂ が CBB サイクルに依存して固定再利用され、P(3HB)へ取り込まれていることを証明している。

第5章「従属栄養 P(3HB)生合成条件での *Ralstonia eutropha* メタボローム解析による CO₂ 固定機能の解明」では、HPLC-質量分析法を用いたメタボローム解析により、従属栄養条件で各代謝物への [1-¹³C]₁-グルコース由来 ¹³C の取り込みを測定している。その結果、炭酸固定酵素 Rubisco の基質であるリブローズ-1,5-ビスリン酸を含む各種代謝物の ¹³C 標識を検出している。また、エネルギー・還元力の収支から糖代謝に伴って固定可能な CO₂ 量を推測し、H16G 株では CBB サイクル不活性化株と比較して推測に合致した P(3HB)炭素収率の増加を見出している。

第6章「*Ralstonia eutropha* 組換え株における CBB サイクル依存好氣的従属栄養生育の解析」では、*R. eutropha* H16 株における糖代謝経路を遮断した株は非常に遅い速度ではあるもののグルコース炭素源での増殖が可能であること、さらに Rubisco との欠失によってその生育能を失ったことから、好氣的従属栄養条件による CBB サイクル依存的生育という報告例のない代謝が *R. eutropha* において成立することを明らかにしている。

第7章「総括」では、第2～6章の結果を総括するとともに、本研究の残された問題点を整理し、得られた知見の応用について展望を述べている。

これを要するに、本論文はバイオポリエステル生産菌である *R. eutropha* の遺伝子発現と代謝について新たな知見を得たことに加え、炭酸固定経路である CBB サイクルが代謝過程の脱炭酸で生成した CO₂ を固定して再利用する機能を有することを明らかにしたものであり、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な価値があると認められる。

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。