

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Growth promotion in <i>Corynebacterium glutamicum</i> by overexpression of NCgl2986 gene encoding a protein homologous to amidase-like proteins
著者(和文)	UTAMI MIA FITRIA
Author(English)	Mia Fitria Utami
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11295号, 授与年月日:2019年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:和地 正明,丹治 保典,山本 直之,八波 利恵,平沢 敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11295号, Conferred date:2019/9/20, 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	Mia Fitria Utami		
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	平沢敬	准教授
	審査員	丹治保典	教授			
		山本直之	教授			
八波利恵		准教授				

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は英文で書かれ、「Growth promotion in *Corynebacterium glutamicum* by overexpression of NCgl2986 gene encoding a protein homologous to amidase-like proteins」と題し、5章より構成されている。

第1章「Introduction」では、アミノ酸発酵産業に利用されており産業微生物として重要な *Corynebacterium glutamicum* の発見の経緯と、これまでのアミノ酸発酵産業への応用の歴史について概説している。また、近年のタンパク質生産宿主としての開発の現状について述べている。さらに、本菌の有する特殊な細胞表層構造について概説している。これらをもとに本研究の発想に至った経緯と、本研究の意義と目的について述べている。

第2章「Growth promotion effect of NCgl2986 overexpression in *Corynebacterium glutamicum*」では、ペプチドグリカン分解酵素である amidase と相同性を示す NCgl2986 の過剰発現が *C. glutamicum* の細胞増殖に及ぼす効果について調べている。NCgl2986 遺伝子の過剰発現は、*C. glutamicum* を炭素源が豊富な培地において培養したときにその最終到達濁度を上昇させることを示している。またこのとき、乾燥細胞重量がコントロールと比べて 1.8 倍に増大することを見出している。さらにこれが、細胞数の増加 (31%) と、細胞長の増大 (16%) の効果によることを明らかにしている。これらのことより、NCgl2986 遺伝子の過剰発現は cell mass の合成を促進していると述べている。

第3章「Possible interaction of NCgl2986 and MurA protein in *C. glutamicum*」では、NCgl2986 が cell mass 合成を促進する機構について解析している。まず精製した NCgl2986-His tag 融合タンパク質にペプチドグリカン分解活性を検出できなかったことや、タンパク質分泌のためのシグナル配列を有さないことから、NCgl2986 はペプチドグリカン分解酵素とは別の機能を有している可能性があるとして述べている。さらに、近縁の *Mycobacterium tuberculosis* における知見をもとに、ペプチドグリカン生合成の初発反応を触媒する MurA タンパク質の過剰発現が、NCgl2986 の過剰発現と同じ増殖促進効果を示すことを見出している。さらに、NCgl2986 と MurA の過剰発現は、薬剤感受性を増大させるなど同じような効果を示すことを明らかにしている。また、NCgl2986 のリン酸化部位の変異体の解析から、NCgl2986 の活性がリン酸化により制御されている可能性を示している。これらのことから、NCgl2986 は MurA と相互作用し、その活性を増大させることにより細胞壁合成を促進している可能性があるとして述べている。

第4章「Effect of overproduction and repression of NCgl2986 on glutamate production」では、第2章において NCgl2986 の過剰発現が cell mass の合成を促進することが明らかとなったことから、逆に NCgl2986 の発現を抑制すれば cell mass の合成が抑制され、発酵産物の生産性が増大する可能性について述べ、これを検証している。ペニシリン処理によるグルタミン酸生産誘導条件において、NCgl2986 遺伝子のアンチセンス RNA を過剰発現させたところ、グルタミン酸の生産量が 6% 増大することを示している。これより、NCgl2986 遺伝子の発現を制御することにより、本菌の発酵生産性を向上させる新しい技術が開発できる可能性について述べている。

第5章「General discussion」では、第2章、第3章、および第4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今後の展望を述べている。

以上を要するに、本論文は、産業微生物として重要な *C. glutamicum* の amidase 様タンパク質をコードする NCgl2986 遺伝子の過剰発現が細胞増殖を促進する機構を解析し、これを応用して本菌の発酵生産性を向上させる技術の開発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な価値があると認められる。