

論文 / 著書情報
Article / Book Information

| | |
|-------------------|---|
| 題目(和文) | 枯草菌ゲノム縮小株の有用物質生産宿主としての有効性 |
| Title(English) | Effectiveness of Bacillus subtilis genome-reduced strain as a bioproduction host |
| 著者(和文) | GrinandaDita |
| Author(English) | Dita Grinanda |
| 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12211号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:平沢 敬,山本 直之,和地 正明,福居 俊昭,三重 正和 |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12211号, Conferred date:2022/9/22, 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 | GRINANDA Dita | |
|-------------|-----|------|---------|---------------|-----|
| 論文審査 審査員 | | 氏名 | 職名 | 氏名 | 職名 |
| | 主査 | 平沢 敬 | 准教授 | 三重正和 | 准教授 |
| | 審査員 | 山本直之 | 教授 | | |
| | | 和地正明 | 教授 | | |
| 福居俊昭 | | 教授 | | | |

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Effectiveness of *Bacillus subtilis* genome-reduced strain as a bioproduction host」と題し、英語で書かれ、6章より構成されている。

第1章「General introduction」では、まず枯草菌 *Bacillus subtilis* の特性や、代謝工学・有用物質生産に関する研究について概説している。また、微生物ゲノム縮小株の定義と枯草菌ゲノム縮小株構築の歴史に加え、本研究で扱っているゲノム縮小株 MGB874 の特徴について説明している。さらに、本論文で対象とするエタノールや L-バリンの微生物による生産、微生物を用いた物質生産において細胞が受けるストレス、枯草菌におけるストレス応答機構について、その概要を記述している。そして、MGB874 株の有用物質生産宿主としての有効性を示すことを本研究の目的としたことを述べている。

第2章「Characteristics of the genome-reduced strain of *Bacillus subtilis* MGB874」では、枯草菌ゲノム縮小株 MGB874 の好気環境における増殖特性と細胞形態、およびアルコール・アミノ酸・塩・高温といったストレスに対する耐性について、ゲノム縮小されていない元株である OA105 と比較しながら評価している。そして、MGB874 株は、好気環境では元株 OA105 と比較して若干高い増殖能を示す、アルコールに対する耐性は元株とそれほど変わらない、L-バリンに対する耐性は若干高い、高温ストレスに対して若干の耐性があるといった有用物質生産に用いる宿主として有効な表現型を示したことを見出している。

第3章「Ethanol production by the *Bacillus subtilis* genome-reduced strain MGB874」では、枯草菌ゲノム MGB874 の乳酸・酢酸・アセトインの生合成経路を破壊した A267 株に、エタノール生産細菌 *Zymomonas mobilis* 由来 *pdC* および *adhB* 遺伝子を導入して構築したエタノール生産株について、回分培養・流加培養におけるエタノールの生産性を評価し、ゲノム縮小株が定常期での効率的なエタノール生産が実現されることを見出している。また、*pdC* および *adhB* 遺伝子を発現させるプロモーターを *lytR* 遺伝子のものに変更した菌株について、さらにエタノールの生産性を向上させることが可能であることを示している。さらに、導入した *pdC* および *adhB* 遺伝子の発現量を測定したところ、ゲノム縮小そのものは *pdC* および *adhB* 遺伝子の発現量には影響を与えなかったことを明らかにしている。そして、ゲノム縮小株 MGB874 が定常期でのエタノール生産を行う際に有効な宿主であると結論づけている。

第4章「Determination of genome deletion region related to enhanced ethanol production by the *Bacillus subtilis* genome-reduced strain MGB874」では、ゲノム縮小株 MGB874 において欠失されている個々のゲノム領域について、元株において欠失したエタノール生産株について、流加培養におけるエタノールの生産性を評価し、ゲノム縮小株 MGB874 におけるエタノール生産の向上に寄与する欠失領域の同定した結果について述べている。そして、同定された欠失領域に含まれる遺伝子の機能をふまえ、予想されるエタノール生産向上のメカニズムについて考察している。

第5章「L-Valine production by the *Bacillus subtilis* genome-reduced strain MGB874」では、A267 株において、L-バリンの生合成にかかわる遺伝子のプロモーターを構成的プロモーターに置換することで過剰発現させた L-バリン生産株について、好気条件下での L-バリン生産レベルをゲノム縮小されていない元株と比較して評価している。そして、L-バリンの生産性向上には成功しているものの高い生産性を実現させるには至らず、さらなる生産性の向上のための代謝改変や培養条件の検討を行い、改めて L-バリン生産におけるゲノム縮小の効果を評価することが必要であると結論づけている。

第6章「General conclusions」では、本研究の総括と問題点に加え、ゲノム縮小株を宿主とした物質生産に関する将来展望について述べている。

以上を要するに、本論文は、枯草菌ゲノム縮小株 MGB874 の有用物質生産宿主としての有効性を評価したものであり、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ものと認められる。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(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。