

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	配列制御型重合酵素を導入した <i>Ralstonia eutropha</i> 改変株 によるポリヒドロキシアルカン酸ブロック共重合体の生合成
Title(English)	Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate block copolymer by engineered <i>Ralstonia eutropha</i> strains harboring sequence-regulating PHA synthase
著者(和文)	石原 静流
Author(English)	Shizuru Ishihara
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第328号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:福居 俊昭,平沢 敬,松田 知子,八波 利恵,柘植 丈治
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第328号, Conferred date:2025/3/26, 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		石原 静流	
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	教授
	審査員	平沢 敬		准教授	審査員		
		松田 知子		准教授			
		八波 利恵		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「配列制御型重合酵素を導入した*Ralstonia eutropha* 改変株によるポリヒドロキシアルカン酸ブロック共重合体の生合成」と題し、5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、PHA生産菌である水素細菌*Ralstonia eutropha*を概説し、次いで、近年開発された改変型PHAシンターゼPhaC_{AR}によるPHAブロック共重合体の生合成を概説し、本研究の意義と目的について述べている。

第2章「*R. eutropha* 改変株の2HB添加培養によるPHA生合成および2HB代謝解析」では、ポリ[3-ヒドロキシブタン酸(3HB)-block-2-ヒドロキシブタン酸(2HB)] [P(3HB-block-2HB)]の生合成を対象として、*R. eutropha*におけるPhaC_{AR}の機能を評価している。研究の過程で*R. eutropha*が2HBにより生育が強く阻害されることを見出し、詳細な検討により2HBの脱水素化で生じた2-ケトブタン酸(2KB)によりVal欠乏に陥って生育が抑制されること、シトクロム依存型D-乳酸デヒドロゲナーゼDldと[Fe-S]タンパク質依存型L-乳酸デヒドロゲナーゼLutACBがそれぞれ(R)/(S)-2HBを脱水素化することを示し、微生物の2-ヒドロキサン酸代謝について新規な知見を得ている。次いで、2KBから(R)-2HB-CoAを供給する代謝経路の導入・Dldの欠失・PhaC_{AR}の過剰発現を施した*R. eutropha*改変株を作製し、生育阻害を回避した2HB添加培養により2HB分率が35 mol%に達したPHA共重合体を生合成している。この2HB含有PHAは高いブロック性を有していることを強く示唆する結果を得て、PhaC_{AR}の配列制御型重合能は大腸菌細胞内や*in vitro*の条件に特異的ではなく、天然のPHA生産菌である*R. eutropha*においても機能することを示している。また、このPHA共重合体が相模湾海底での分解試験において十分な生分解性を示すことを確認している。

第3章「*R. eutropha* 改変株によるThrからの2HB含有PHA生合成」では、PhaC_{AR}を導入した*R. eutropha*株について、Thrデヒドラターゼのフィードバック阻害耐性化・Thr分解代謝経路欠失・内在性デヒドロゲナーゼDldおよびLdh欠失の改変を加えている。この作製株はThr添加培養において約2.5 mol%の2HBユニットを含むPHA共重合体を生合成することを見出し、2HB含有PHAの生合成においてThrを前駆体とする経路が有望であることを示している。

第4章「*R. eutropha* 改変株によるグルコースからの2HB含有PHA生合成」ではグルコースからThrを中間体として(R)-2HBを供給する経路の確立に向け、*R. eutropha* Thr過剰生産株の取得を試みている。アナログ耐性変異株としての選抜やThr生合成フィードバック阻害の解除を検討しながらも取得には到らなかったが、*R. eutropha*が他微生物種とは異なる特異なThr代謝経路を有することを示している。一方で、Thrを経由しない2KB供給経路としてシトラマル酸経路を導入し、グルコース単一炭素源培養において約0.9 mol%の2HBユニットを含有するPHAが生合成できることを示している。

第5章「総括」では、第2～4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展望を述べている。

これを要するに、本論文は新規な生分解性ポリエステル素材として期待されるPHAブロック共重合体の生合成が効率的PHA生産菌である*R. eutropha*の改変によって可能とな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ものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東京科学大学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。