

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 工 学 ）	氏名	阿 部 健 二
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Expansion of assimilable substrates in <i>Escherichia coli</i> for efficient fermentation and biocontainment applications</p> <p>(大腸菌における資化可能な基質の拡張の研究：発酵生産の効率の向上と生物学的封じ込め技術への応用)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教 授 黒 田 章 夫</p> <p>審査委員 教 授 秋 庸 裕</p> <p>審査委員 教 授 中 島 田 豊</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>第1章は序論として本研究の目的と意義を明らかにした。発酵法による医薬、アルコール、酵素、アミノ酸等の有用物質の生産は世界中で広く行われている。中でもアミノ酸は調味料や飼料添加物、甘味料原料等に使用される有用物質で、主に大腸菌やコリネ型細菌を用いた発酵法により生産されており、数年後には1,000万トンを超えると予想されている。アミノ酸発酵において最も多用される糖源は、とうもろこしなどの植物から抽出したデンプンを酵素により加水分解したグルコース系発酵原料である。しかしながら完全な分解は困難であることから、マルトースやイソマルトースなどの2糖やパノースなどの3糖が数%原料に混入する。これらの糖はグルコース抑制や資化能の欠如等の理由により発酵液に残存し、発酵収率の低下やメイラード反応による製品品質への悪影響を及ぼすことが課題となっている。</p> <p>一方、生産菌株は、遺伝子組み換え技術を用いて基質の取込系改変、生合成経路の強化、フィードバック阻害や分解系の除外、排出能強化等の育種改良が行われている。遺伝子組換え体は漏洩すると環境影響が懸念されるため、各国にカルタヘナ法を主とする規制が存在し、密閉系で取り扱う必要がある。近年、さらに漏洩リスクの最小化のために、生物学的封じ込め技術への注目が増している。</p> <p>以上の背景から、本研究では、イソマルトースやパノースを資化する遺伝子を大腸菌に導入することで残存糖を無くし、発酵生産効率の向上と品質の向上を狙った。また、大腸菌に亜リン酸のみを資化するように改良することで、新たな生物学的封じ込め技術の開発を行った。</p> <p>第2章では大腸菌へのイソマルトースとパノースの資化能付与について詳しく記述した。<i>Bacillus subtilis</i>由来のホモログであるGlvAとGlvCを大腸菌内で発現させること</p>			

で、イソマルトースとパノースの資化能を付与出来ることを見出した。その他にも複数の3糖や糖アルコールが新たに GlvA と GlvC により資化されることを確認した。また、大腸菌はグルコース抑制によりグルコースの存在下ではマルトースを資化しないが、異種の経路である GlvA と GlvC の発現により同時資化が可能となった。更に、GlvA と GlvC を発現させたアミノ酸発酵モデル菌を用いてアミノ酸発酵を行った結果、構築した株はイソマルトースとパノースを資化し、発酵生産性が向上することを示した。以上の結果から、従来発酵されることなく廃棄されていたマルトース、イソマルトース及びパノースを有効に利用する技術の開発に成功した。

第3章では亜リン酸を利用した菌株の生物学的封じ込め技術の開発について詳しく記述した。亜リン酸は通常環境には存在しない化合物である。微生物を亜リン酸存在下でのみ生育し、リン酸では生育出来ない微生物に改変することが出来れば、新たな生物学的封じ込めの技術になると考えた。そのために、①リン酸取込系 (PitA, PitB, PstSCAB, PhnCDE) とリン酸エステル取込系 (UhpT, UgpB, GlpT) を欠損させることで、大腸菌が有するリン酸/リン酸エステル資化能をすべて欠失させた。② *Pseudomonas stutzeri* WM88 株の次亜リン酸トランスポーター HtxBCDE (亜リン酸を輸送できるがリン酸は輸送できないトランスポーター) と亜リン酸デヒドロゲナーゼ PtxD (亜リン酸をリン酸に変換する酵素) を大腸菌で発現させることで、亜リン酸のみを資化する能力を付与することができた。本株はリン酸をリン源とする一般的な複合培地では生育せず、亜リン酸を含む培地でのみ生育した。以上の結果から、亜リン酸を利用した菌株の生物学的封じ込め技術の開発に成功した。

第4章では研究成果を統括した。本研究は、大腸菌における資化可能な基質を拡張することで発酵生産の効率の向上と生物学的封じ込め技術へ応用出来ることを示したことから、組み換え大腸菌を用いた発酵法の進歩に貢献できるものであると結論した。

以上の内容は学術的価値が高く、博士論文としてふさわしいと判断し、本論文の著者は博士 (工学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。

試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 工 学 ）	氏名	阿 部 健 二
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Expansion of assimilable substrates in <i>Escherichia coli</i> for efficient fermentation and biocontainment applications</p> <p>(大腸菌における資化可能な基質の拡張の研究：発酵生産の効率の向上と生物学的封じ込め技術への応用)</p>			
<p>試験担当者</p> <p>主 査 教 授 黒 田 章 夫</p> <p>審査委員 教 授 秋 庸 裕</p> <p>審査委員 教 授 中 島 田 豊</p>			
<p>[試験の結果の要旨]</p> <p style="text-align: center;">判定 合格</p> <p>学位請求論文の発表に続き、口頭による試験を行った。論文の内容およびその関連する事項として、大腸菌において糖資化性を向上させた場合の増殖速度に関する質問、実際の発酵原料を用いた時の残存糖の質問、プラスミド上に起こる変異に関する質問、封じ込め株を一般的な宿主として用いる可能性と利点に関する質問を行ったところ、本申請者は、いずれの質問に対しても基礎・専門知識をもとに明快で論理的な説明ができ、十分な能力を有することが確認できた。したがって、本申請者は博士（工学）の学位を授与するに値する学識を有することを審査委員全員の一致により認めた。</p>			

備考 要旨は、400字程度とし、試験の方法も記載すること。