

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（工学）	氏名	竹村 海生
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Development of gas fermentation process with metabolically engineered <i>Moorella thermoacetica</i> (<i>Moorella thermoacetica</i> 代謝改変株を用いたガス発酵プロセスの開発)			
論文審査担当者			
主査	教授	中島田	豊
審査委員	教授	秋	庸裕
審査委員	教授	岡村	好子
〔論文審査の要旨〕			
<p>ガス発酵は、水素（以下 H₂）、一酸化炭素（以下 CO）、そして二酸化炭素（以下 CO₂）などのガス原料から有用物質を生産する技術である。原料供給源は農業廃棄物や廃棄プラスチックなど多岐に渡り、持続可能な社会で重要な役割を担うことが期待されている。これまで、ガス発酵技術は <i>Clostridium autoethanogenum</i> などの 30～37℃で増殖する中温菌を用いた開発が進められてきた。しかし、中温菌を用いた発酵生産では、他の微生物による汚染リスク、低沸点化合物生産における蒸留工程でのエネルギーロスなどの課題がある。その解決策のひとつとして好熱菌の利用が提案されている。好熱菌 <i>Moorella thermoacetica</i> は 50～60℃で増殖し、糖に加えてガス資化性を有する。酢酸を主要生産物とするが、近年、代謝経路改変による糖質からのエタノール生産が報告されている。しかし、ガス基質を用いた場合の発酵特性の詳細は検討されていなかった。そこで竹村氏は、<i>M. thermoacetica</i> 代謝改変株のガス発酵における増殖、物質生産特性を詳細に解析し、ガス基質からの有用物質生産に適した代謝設計、および最適生産方法に関する知見を学位論文としてまとめた。</p> <p>学位論文は、全4章で構成されている。第1章では、既存技術と比較したガス発酵の利点と、中温菌と比較した好熱菌の利点を整理し本研究の意義を述べている。</p> <p>第2章では、エタノール生産代謝改変株を用いた様々なガス培養条件下での増殖、エタノール生産試験から得られた成果が述べられている。エタノール生産代謝改変株として、アセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子 (<i>aldh</i>) を導入するとともに、酢酸生成を担う2種のホスホトランスアセチラーゼ遺伝子(以下 <i>pdul1</i>, <i>pdul2</i>)のうち、<i>pdul2</i> のみを破壊した Mt-Δ<i>pdul2</i>::<i>aldh</i> 株、両方を破壊した Mt-Δ<i>pdul1</i>Δ<i>pdul2</i>::<i>aldh</i> 株が用いられた。H₂/CO₂ 培養において両株はエタノール生産も増殖もしなかったが、この時、両株の細胞内 ATP プールは枯渇していた。そこ</p>			

で H₂ よりも高い ATP 供給が期待できる CO を添加した結果、Mt- $\Delta pduL2::aldh$ 株は増殖し、エタノールを生産した。一方、Mt- $\Delta pduL1\Delta pduL2::aldh$ 株はエタノール生産も増殖もしなかった。このことから、ATP 供給とは別の要因により Mt- $\Delta pduL1\Delta pduL2::aldh$ 株の代謝が阻害されていると考えられた。そこで、Mt- $\Delta pduL1\Delta pduL2::aldh$ 株の NADH/NAD⁺比を調べたところ、Mt- $\Delta pduL2::aldh$ 株よりも有意に低く、酸化還元バランスが崩れていることが示唆された。以上の研究から、ガス基質からエタノールを生産する場合、「ATP 供給不足」と「アンバランスな酸化還元状態」という二つの課題を解決する必要があることが見いだされた。

第 3 章では、上記の二課題を切り分けて解析するために、酸化還元バランスが崩れないアセトン生産代謝改変株を構築し、ATP 供給の効果をさらに検証した。代謝改変株は、野生株と同様に Acetyl-CoA 以降で酸化還元反応を必要としないアセトン生合成経路を導入するとともに、アセトン生産性を高めるために $\Delta pduL2$ 遺伝子を破壊することで作製した。本代謝改変株は糖基質アセトンを高生産し、H₂/CO₂ 条件下においてもアセトンが生産された。しかし菌体は増殖せず、「ATP 供給不足」であることが示唆された。そこで H₂/CO₂ 条件下で、本菌の嫌気呼吸の電子受容体であり、ATP 供給を期待できるジメチルスルホオキシドを添加したところ増殖が回復し、アセトン生産性も向上した。さらに、CO を含むガス条件では、増殖とアセトンを生産できることが示された。以上のことから、「ATP 供給不足」がガス発酵におけるボトルネックの一つであることを明らかにした。

本論文第 4 章では、上記成果のまとめ、好熱菌代謝改変株によるガス基質からの有用化合物生産技術の開発に成功したと結論付けている。

以上、審査の結果、本論文はガス発酵技術の発展に寄与する基盤研究として、統合生命科学 研究科学学位論文評価基準を満たし、著者は博士（工学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。

備考 審査の要旨は、1,500 字以内とする。