

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 外村彩夏

微生物が菌体内に合成・蓄積するポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) は、優れた生分解性を有するプラスチックである。PHA の実用化のためには、物性面での課題を改善し、低コスト生産の系を構築する必要がある。そのため、PHA 生合成関連遺伝子の解析が必須であり、得られた知見を基に、PHA のモノマー組成を自由に制御することが重要となる。PHA は、炭素数が 4 の 3-ヒドロキシブタン酸 (3HB) をモノマー単位とする P(3HB) と炭素数 6~14 の中鎖長 3-ヒドロキシアルカン酸 (3HA) をモノマー単位とする P(3HA) に分類されるが、P(3HB) は硬くて脆く、P(3HA) はアモルファスでゴム弾性を示すため、それぞれ単独では実用的なプラスチックとはいえない。しかし、3HB と 3HA ユニットのランダム共重合体 P(3HB-co-3HA) を合成させ、その組成比を変化させることによって、用途に応じた PHA を合成することが可能となる。

Pseudomonas sp. 61-3 は 2 種類の PHA、P(3HB) および P(3HB-co-3HA)、を合成し、同一菌体内にそれぞれの PHA を別々の顆粒として蓄積する。これまでに PHA 生合成に関わる遺伝子群 (*phb* および *pha*) の一部が同定されている。本研究では、*Pseudomonas* sp. 61-3 における新たな PHA 生合成関連遺伝子を見出し、その機能を考察した。さらに、得られた知見および研究報告を基に PHA 生合成細菌の分子育種を行った。本研究で得られた知見および成果を以下に記す。

PHA 顆粒には、特異的に結合するタンパク質 (GAP; Granule-associated protein) が存在する。GAP は、PHA 顆粒の細胞内での安定化に寄与するのみならず、PHA 生合成遺伝子の転写調節や PHA 重合酵素の活性を高めるものも知られており、PHA 生産に向けて、GAP 遺伝子の詳細な機能を解析する必要がある。外村彩夏氏は、*Pseudomonas* sp. 61-3 の未同定だった GAP のうち、P(3HB) 顆粒に特異的に結合する GA24 (PhbP) を同定し、さらに、その周辺領域の遺伝子をクローニングした。また、さまざまなモノマー組成を有する共重合 PHA を *Pseudomonas* sp. 61-3 の組換え株で合成させ、それぞれの PHA 顆粒に結合する GAP とモノマー組成比との関係を明らかにした。加えて、優れた共重合ポリエステルを合成する微生物育種として、*Ralstonia eutropha* および大腸菌の組換え株を作製し、糖や二酸化炭素からの優れた物性を有する P(3HB-co-3HA) 共重合ポリエステルの合成を行った。以下に、外村氏の研究成果において注目する点をあげる。

1. *Pseudomonas* sp. 61-3 の P(3HB) の生合成に関わる遺伝子群 (*phb* locus) 上に phasin (GA24) 遺伝子 (*phbP*) および *phbP* 遺伝子の転写レプレッサー遺伝子 (*phbF*) を発見した。さらに、*phb* locus 上にもう一つの ORF を新たに見いだした。
2. PHA のモノマー組成と GAP の PHA 顆粒との結合について調べた結果、GAP の GA24 (PhbP)、GA18 (PhaI) および GA36 (PhbF) の PHA 顆粒への結合は、PHA 重合酵素との相互作用ではなく PHA のモノマー組成に依存していることをはじめて明らかにした。
3. 得られた基礎的知見を基に、微生物の分子育種を行い、*R. eutropha* および大腸菌の組換え株を作製し、糖からの P(3HB-co-3HA) の合成を試みた。その中で、*Pseudomonas aeruginosa* PAO の PA3924 遺伝子の翻訳産物が (R)-3-ヒドロキシアシル CoA リガーゼ活性を有することをはじめて明らかにし、大腸菌を宿主として、グルコースから P(3HB-co-5.4% 3HA) の合成に成功した。

上記の研究は、PHA 生合成遺伝子の解析やその知見を活かした微生物の分子育種を行ったものであり、PHA の実用化への課題解決に大きく貢献するものと考えられる。以上より、外村彩夏氏の研究は、博士 (環境共生学) の学位に相応しいものと判定する。

主査 松崎 弘美