OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Evaluation and Control of Stress Response Functions of Bacterial Cells and Their Utilization for the Integrated Bioprocess
Author(s)	馬越, 大
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3129129
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏名	馬越 大（うまこし ひろし）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 13230 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科化学系専攻
学位論文名	Evaluation and Control of Stress Response Functions of Bacterial Cells and Their Utilization for the Integrated Bioprocess （微生物細胞のストレス応答機能の評価と制御ならびにその複合バイオプロセスへの応用）
論文審査委員	（主査） 教授 駒沢 勲 （副査） 教授 東稔 節治　教授 久保井亮一　教授 葛西 道生 教授 菅 健一

論文内容の要旨

細胞は，周辺環境からの各種ストレスに応答し，その環境に適応するための『ストレス応答機能』を有している。例えば，細胞に熱ストレスを負荷した際，(1)細胞内の損傷タンパク質の修復，(2)輸送，(3)凝集体の形成，あるいは，(4)分解等を通じて応答する。物理的・化学的ストレスなど，さらに強いストレスに対しては，(5)細胞の破壊・溶菌等が見られるようになる。現在のところ，分子レベルから細胞レベルまで，細胞のストレス応答機能に関する定性的知見は数多く報告されているが，各レベルから定量的・総合的に検討した研究は少ない。

本研究では，各種ストレスとそれに対応する細胞の応答を定量的なパラメータを用いて体系的に相関づけ，最適化したストレスにより上述した一連の細胞の応答機能を発現・制御・利用した高選択的なバイオ生産分離プロセスの開発を目的とする。まず，各種ストレス条件下における細胞の応答特性を，平衡論的（水性二相分配法）・速度論的（細胞破砕・溶菌，細胞内物質の放出過程の解析）な観点から，定量的に解析する手法について検討した。それらの手法を用いて，熱ストレスに対する細胞の応答過程を解析した。特に，熱ストレス条件下において，細胞内目的タンパク質が大腸菌細胞の内膜を介して輸送される細胞応答機能に着目し，その機構について検討した。その結果，細胞内目的タンパク質の細胞内膜の輸送は，タンパク質や細胞膜構成物質間の疎水的相互作用により誘導・制御されている事を明らかにした。さらに，モデル細胞系（リポソーム）を構築し，細胞の熱ストレス応答機能の発現過程を検証した。以上の知見に基づき，上述の細胞のストレス応答機能と水性二相系とを複合的に利用したバイオ生産分離プロセスを開発すると共に，細胞のストレス応答機能をバイオ生産分離プロセスに活用するための指針を示した。

論文審査の結果の要旨

細胞は，周辺環境からのストレスを認識し，ストレスタンパク質の発現による損傷タンパク質の修復，特定タンパク質の輸送・放出，不活性な凝集体の形成，あるいは細胞の破壊・溶菌などの様々な経路を通じて応答する。一連の細胞のストレス応答機能の発現過程を制御・利用する事により，高選択的バイオ生産分離プロセスへの展開が期待できる。現在，分子レベルから細胞レベルまで，細胞のストレス応答機能に関する定性的知見は数多く報告されているが，各レベルから定量的・総合的に検討した研究は少ない。

本論文では，細胞のストレス応答機能を，ストレス条件下における i ）細胞膜，および，ii）細胞内目的物質（β－galactosidase）の表面特性の変化と，発現されたストレス応答機能を相互に関連させて定量的・体系的に検討した。細胞の各種表面特性は，タンパク質と同様に平衡論的手法（水性二相分配法）を用いて解析可能であった。物理的（機械的）ストレスに対する細胞応答の速度論的解析より得られる速度定数を用いて，細胞内部の特性，特に，酵素の細胞内局在性の定量的評価が可能であることを示した。化学的ストレスに対する細胞の応答過程も同様に速度論的に解析し，ストレスにより細胞応答を制御する方法を確立した。特に，平衡論的手法と組み合わせて，細胞内膜の表面特性を解析した。以上の手法を用いて，熱ストレスを負荷した時の細胞応答，特に，細胞内目的酵素β－galactosidaseの膜輸送挙動を解析した。大腸菌細胞に熱ストレスを負荷することにより，細胞質に存在するβ－galactosidaseが，内膜を透過しペリプラズムへ輸送される事を示した。モデル細胞（リポソーム）系においても同様に，熱ストレス条件下で酵素が膜を介して輸送される事を確認した。細胞およびモデル細胞の結果より，細胞内酵素の膜輸送現象は，熱ストレス条件下における酵素－細胞膜の疎水的相互作用の増加により誘導される事を明らかにした。上述の知見に基づき，細胞のストレス応答機能と水性二相系を複合利用したバイオ生産分離プロセスを開発すると共に，それを設計・開発するための指針を示した。

以上のように，本論文は(1)細胞の各種特性を平衡論的・速度論的手法を用いて定量的に評価できること，(2)ストレス条件下の生体物質間の疎水的相互作用を制御する事で細胞応答の制御が可能であること，(3)細胞のストレス応答機能をバイオ生産分離プロセスに応用できることを明らかにした。よって，博士論文に値するものと判定する。