

Title	出芽酵母を用いた物質生産のための代謝設計に関する研究
Author(s)	井田, 祥弘
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24945
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	井田 祥弘
博士の専攻分野の名称	博士 (情報科学)
学位記番号	第 25870 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 情報科学研究科バイオ情報工学専攻
学位論文名	出芽酵母を用いた物質生産のための代謝設計に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 清水 浩 (副査) 教授 松田 秀雄 教授 若宮 直紀 教授 四方 哲也 教授 前田 太郎 招へい教授 古澤 力

論文内容の要旨

生物を用いた物質生産は、古くより醸造を初めとする発酵・食品産業などに用いられてきたが、近年非石油由来の基質を用いた化成品生産の方法であるなどのメリットが認められてきており、今後さらなる発展が期待できる分野である。微生物に有用物質生産能など、有益な形質を与えるための代謝改変は古くより試みられているが、依然として確立された方法は存在しない。そこで本研究では近年有用物質として注目されている乳酸を例とし、遺伝子操作株の作成から培養条件検討および実際の培養プロセス構築までを一貫して行い、そこから有用物質生産を目的とした育種に有用な知見を得ることを目的とした。本研究では、乳酸生産プロセス開発のため大きく分けて2つの戦略を用いている。一つ目は分子生物学的育種による物質生産用宿主創製である。ここでは出芽酵母を用いた物質生産を行う際に重要な副産物となるエタノールおよびグリセロールの生産を、関連する遺伝子の多重破壊を行い、安定的に抑制した宿主の開発に成功し、それを用いた乳酸生産株を構築した。二つ目は細胞内代謝を予測可能な*in silico*モデルの利用である。本研究では全ゲノム解析より得られた代謝反応に関する情報を元に構築されたゲノムスケール代謝モデルを用いて、構築した株を用いて乳酸生産を実現する上で最適な培養条件の検討を行い、それをもとに培養プロセスを構築した。また、そこから得られた知見を別の生産可能物質の探索に応用する方法について議論した。以下に本論文の内容を示す。

第1章では、研究の背景および目的について述べた。第2章では、出芽酵母を用いた物質生産の際、副産物となるエタノール、グリセロールの生産を恒常的かつほぼ完全に抑制した株の構築に成功したことについて記述した。第3章では第2章で構築したエタノール-グリセロール生産抑制株を利用し、さらに*in silico*代謝モデルを用いて得られた最適な培養条件を実際の培養に適用することにより、対糖収率で理論上最大となる 2 (mol/mol-glucose) の高収率乳酸生産プロセスを実現した。第4章では第3章で最適な乳酸生産条件を探索した*in silico*解析を乳酸以外の物質に広げた。ここではゲノムスケール代謝モデルを用いた解析の乳酸以外の有用物質生産への応用、およびシミュレーション結果の解釈や得られたフラックス分布の実現可能性について述べた。第5章では、本研究で得られた知見をまとめ、今後の展望を述べた。

このように、本論文では、物質生産のための代謝設計に関する体系的な方法を提案し、その有効性について述べた。

生物を用いた物質生産は発酵、食品産業などに用いられてきた。近年、非石油由来の基質を用いた化成品生産の方法としても注目されている。本研究では、ポリマー原料などの用途があり、有用物質として注目されている乳酸を目的生産物とし、遺伝子操作株の作成から培養条件検討および培養プロセス構築までを一貫して行い、これらを通して有用物質生産のための微生物育種のための有用な知見を得ることを目的としている。本研究では、乳酸生産プロセス開発のため、大きく分けて二つの方法を検討している。

一つ目は分子生物学的育種による物質生産用の宿主細胞の創製である。ここでは、出芽酵母を用いた物質生産を行う際に重要な副産物となるエタノールおよびグリセロールの生産について検討している。関連する遺伝子の多重破壊を行って、安定的に副生物生成を抑制した宿主の開発に成功している。また、この破壊に加えて乳酸生産経路を導入することで乳酸生産酵母の構築に成功している。

二つ目は細胞内代謝を予測可能な*in silico*モデルの応用に関するものである。本研究では、全ゲノム解析より得られた代謝反応に関する情報をもとに構築されたゲノムスケール代謝モデルを用いて、構築した乳酸生産酵母株を用いて乳酸生産を実現する上で最適な培養条件の検討を行って培養プロセスを構築している。その結果、対糖収率で理論上最大となる値に近い高収率で乳酸生産プロセスを実現している。さらに、ゲノムスケール代謝モデルを用いた解析の乳酸以外の有用物質生産への応用およびシミュレーション結果の解釈、得られたフラックス分布の実現可能性について検討を行っている。

このように、本論文では、物質生産のための細胞の代謝設計に関する体系的な方法を提案し、その工学的な有効性について述べており、情報科学と生物工学の融合領域において重要な貢献をもたらすものである。よって、博士 (情報科学) の学位論文として価値あるものと認める。