



Title	シアノバクテリアの代謝フラックス解析法の開発と異なる栄養条件におけるSynechocystis sp. PCC 6803の代謝解析
Author(s)	仲嶋, 翼
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52017
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (仲嶋 翼)	
論文題名	シアノバクテリアの代謝フラックス解析法の開発と異なる栄養条件における <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803の代謝解析
<p>シアノバクテリアの光合成能力を用いた、CO₂から有用物質を生産するプロセスの実現が期待されている。様々な有用化合物が生産可能であることが実証されているが、その生産収率は大きな向上の余地を残している。生産収率を高めるには、細胞が培養環境に応じてどのように代謝を変化させるのかを把握し、適切な制御や改変を加えなければならない。シアノバクテリアは光合成によりCO₂を単一炭素源として生育する光独立栄養条件のほか、グルコースを単一炭素源として生育する従属栄養条件、CO₂とグルコースを併せて利用する混合栄養条件など、多様な栄養条件における生育が可能である。また、窒素などの栄養源を制限することで、増殖を阻害し目的物質の生産収率を高める方法も物質生産に用いられる。このような様々な栄養条件においてシアノバクテリアの代謝の流れを明らかにすることは、生産収率向上に向けた代謝改変戦略立案の重要な基礎をなすと考えられる。本研究では、シアノバクテリアの代謝フラックス解析法を開発し、モデル生物である <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803について、異なる栄養条件下において代謝フラックス分布を解析することを目的とした。</p> <p>本学位論文は第1章から第5章により構成される。第1章では本研究の背景と目的について記述した。第2章では、¹³C標識グルコースを用いた代謝フラックス解析法を開発した。従属栄養条件と混合栄養条件の <i>Synechocystis</i> に代謝フラックス解析を適用し、2条件間において代謝フラックス分布が大きく変化したことを明らかにした。代謝フラックス解析結果をメタボローム分析およびトランスクリプトーム分析結果と比較することで、大規模な代謝フラックス分布の変化は、一部の遺伝子の発現量変化によって生じた可能性が示された。第3章では、これまで構築されていなかった¹³C標識CO₂を用いた代謝フラックス解析法を開発し、光独立栄養条件における <i>Synechocystis</i> の代謝フラックス分布を解析した。CO₂を単一炭素源として生育する条件の代謝フラックス分布を明らかにし、物質生産にとって理想的な代謝フラックス分布と比較することで、生産収率向上へ向けた代謝改変戦略を考察した。第4章では、<i>Synechocystis</i> の硝酸トランスポータ破壊株を用いて、窒素制限条件における代謝フラックス分布の変化を初めて明らかにした。窒素制限によって中央代謝系内の代謝フラックス分布が大きく変化し、細胞は固定した炭素をグリコーゲンやCO₂として排出することが分かった。第5章では本研究で得られた知見をまとめ、代謝フラックスに着目してシアノバクテリアの工学的育種について述べた。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名	仲嶋 翼		
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	教授	清水 浩
	副査	教授	松田秀雄
	副査	教授	若宮直紀
	副査	教授	四方哲也
	副査	教授	前田太郎
	副査	招へい教授	古澤 力
論文審査の結果の要旨			
<p>シアノバクテリアの光合成能力を利用してCO₂から有用物質を生産するプロセスの実現が期待されている。様々な有用化合物が生産可能であることが実証されているが、その生産収率は大きな改善を必要とする。生産収率を高めるには、細胞が培養環境に応じて、どのように代謝を変化させるのかを検討し、適切な制御や改変を加える必要がある。シアノバクテリアは光合成によりCO₂を単一炭素源として生育する光独立栄養条件のほか、グルコースを単一炭素源として生育する従属栄養条件、CO₂とグルコースを併用する混合栄養条件など、多様な栄養条件での生育が可能である。また、窒素源を制限することで、増殖を阻害し、目的物質の生産収率を高める方法も物質生産にむけて検討されている。様々な栄養条件においてシアノバクテリアの代謝の流れを明らかにすることは、生産収率向上に向けた代謝改変戦略立案にとって重要である。</p>			
<p>本研究では、シアノバクテリアの代謝フラックス解析法を開発し、モデル生物である <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803について異なる栄養条件下において代謝フラックス分布を解析することを目的としている。</p>			
<p>本研究では、まず、¹³C標識グルコースを用いた代謝フラックス解析法を開発している。従属栄養条件と混合栄養条件の <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803に代謝フラックス解析を適用し、二条件間において代謝フラックス分布が大きく変化したことを明らかにしている。また、代謝フラックス解析結果をメタボローム分析およびトランスクリプトーム分析結果と比較し、大規模な代謝フラックス分布の変化は、一部の遺伝子の発現量変化によって生じた可能性を示している。</p>			
<p>次に、従来、¹³C標識CO₂を用いた代謝フラックス解析法を開発し、光独立栄養条件における <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803の代謝フラックス分布を解析している。CO₂を単一炭素源として生育する条件の代謝フラックス分布を明らかにし、物質生産にとって理想的な代謝フラックス分布と比較することで、生産収率向上へ向けた代謝改変戦略を考察している。</p>			
<p>さらに、<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803の硝酸トランスポート破壊株を用いて、窒素制限条件における代謝フラックス分布の変化を明らかにしている。窒素制限によって中央代謝系内の代謝フラックス分布が大きく変化した、細胞は固定した炭素をグリコーゲンやCO₂として排出することが明らかにされている。</p>			
<p>以上のように、本論文では、シアノバクテリア <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803の光合成能力を用いたCO₂からの有用物質生産を目的として、従属栄養条件、混合栄養条件、光独立栄養条件、窒素制限条件といった、様々な栄養条件において代謝フラックス解析を可能とする方法の開発に成功するとともに、各条件での代謝状態を明らかにし、得られた知見をまとめて代謝フラックスを基盤としたシアノバクテリアの工学的育種について考察を深めており、次世代細胞工場として期待されているシアノバクテリアの代謝解析、育種戦略にとっ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。</p>			