



Title	微生物育種に向けた多重遺伝子破壊の探索手法の開発
Author(s)	大野, 聡
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52028
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 (大野 聡)	
論文題名	微生物育種に向けた多重遺伝子破壊の探索手法の開発
論文内容の要旨	
<p>バイオ燃料やプラスチック原料を高効率に生産可能な微生物の育種では、ターゲット化合物の生合成経路を活性化させるほかに、遺伝子破壊により不要な代謝経路の不活性化が行われる。微生物が持つ数百・数千の遺伝子からターゲット化合物の生産性向上に寄与する破壊候補遺伝子を絞り込む手法として、計算機上での代謝シミュレーション手法 (Flux balance analysis, FBA) が用いられている。しかし、同時に破壊する遺伝子数が増加すると、その組み合わせが指数関数的に増加することが課題となっている。本研究では、ゲノムスケールの代謝モデルについて、微生物育種に有望な多重遺伝子破壊の大域的探索手法および局所的探索手法の開発を目指した。</p> <p>学位論文では以下の第1章から第4章で構成される。</p> <p>第1章では、研究の背景および目的を述べた。使用したFBAは、微生物のゲノム情報や環境条件を入力とし、各代謝反応の反応速度を出力とするシミュレーション手法である。これは、代謝の定常を満たす条件で、細胞の比増殖速度を最大化する線形計画問題として設定できる。代謝モデル中の1000以上の代謝反応について反応速度を推定可能であり、広く利用されている。</p> <p>第2章では、ターゲット化合物を高生産可能な多重遺伝子破壊を大域的に探索する手法を開発した。探索を高速化するため、解析したい栄養条件に応じて縮約した代謝モデルを自動的に構築し、破壊対象の遺伝子数を削減した。例えば、1260遺伝子からなる大腸菌の代謝モデルでは、グルコース炭素源好気条件下での破壊対象の遺伝子は393まで減少し、3重破壊の探索時間は10^7秒から10^2秒に短縮された。開発手法を、大腸菌による1,3-プロパンジオール生産などに対して適用し、高い生産収率が予測される3重破壊を新たに複数見つけ出すことに成功した。</p> <p>第3章では、さらなる多重遺伝子破壊を局所的に探索する手法FastPros (Fast Algorithm of knockout Screening for Target PRoduction based on Shadow price analysis) を開発した。ターゲット生産速度と比増殖速度の関連性を、線形計画問題におけるシャドウプライスを用いて評価し、これを指標とした局所的探索手法FastProsを開発した。FastProsの性能を調べるため、大腸菌細胞内の625化合物それぞれの生産に有望な破壊候補遺伝子をFastProsにより探索した。結果、生産収率を指標とした局所的探索手法より多い472の化合物について、破壊候補遺伝子が同定され、大域的探索では適用が難しい6遺伝子以上の同時破壊も予測が可能となった。</p> <p>第4章では、まとめと展望を述べた。開発した探索手法は、ゲノムの解読された微生物種に対して広く利用され、破壊候補遺伝子を探索する汎用的な手法となることが期待される。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名	大野 聡		
	(職)	氏名	
論文審査担当者	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

バイオ燃料やプラスチック原料を高効率に生産可能な微生物の育種では、標的化合物の生合成経路を活性化させるほかに、遺伝子破壊により不要な代謝経路の不活性化が行われる。微生物が持つ数千の遺伝子から標的化合物の生産性向上に寄与する破壊候補遺伝子を絞り込む手法として、計算機上での代謝シミュレーション手法 (Flux balance analysis, FBA) が広く用いられている。しかし、同時に破壊する遺伝子数が増加すると、その組み合わせが指数関数的に増加することが課題となっている。本研究は、ゲノムスケールの代謝モデルについて、微生物育種に有望な多重遺伝子破壊の大域的探索手法および局所的探索手法の開発を目指したものである。

本論文で用いているFBAは、微生物のゲノム情報や環境条件を入力とし、各代謝反応の反応速度を出力とするシミュレーション手法である。これは、代謝の定常を満たす条件で、細胞の比増殖速度を最大化する線形計画問題として設定できる。代謝モデル中の1,000以上の代謝反応について反応速度を推定可能であり、広く利用されている。

本研究では、まず、標的化合物を高生産可能な多重遺伝子破壊を大域的に探索する手法を開発している。探索を高速化するため、解析したい栄養条件に応じて縮約した代謝モデルを自動的に構築し、破壊対象の遺伝子数の削減を行っている。例えば、1,260遺伝子からなる大腸菌の代謝モデルでは、グルコース炭素源好気条件下での破壊対象の遺伝子は393まで減少し、3重破壊の探索時間は 10^7 秒のオーダーから 10^2 秒のオーダーに短縮されることを明らかにしている。また、本方法により、異なる環境条件や栄養条件においてそれぞれに適した縮約モデルを自動的に構築できることを示している。開発された手法は、大腸菌による1,3-プロパンジオール生産などに対して適用され、高い生産収率が予測される3重破壊を新たに複数見つけ出すことに成功しており、有効性が確認されている。

さらに、多重遺伝子破壊を局所的に探索する手法FastPros (Fast Algorithm of knockout Screening for Target PROduction based on Shadow price analysis) を新たに開発している。ターゲット生産物の生産速度と比増殖速度の関連性を、線形計画問題におけるシャドウプライスを用いて評価し、これを指標とした局所的探索手法FastProsを開発している。FastProsの性能を調べるため、大腸菌細胞内の625化合物それぞれの生産に有望な破壊候補遺伝子をFastProsにより探索し、生産収率を指標とした局所的探索手法より多い472の化合物について、破壊候補遺伝子が同定され、大域的探索では適用が難しい6遺伝子以上の同時破壊も予測が可能となることを示している。

以上のように本論文では、ゲノムスケールの代謝モデルについて、微生物育種に有用な多重遺伝子破壊の大域的探索手法および局所的探索手法を開発することに成功している。ゲノムの解読された微生物種に対して今後、広く利用され、破壊候補遺伝子を探索する上で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。