



Title	13C代謝フラックス解析に基づいた微生物のNADPH再生および消費の収支に関する研究
Author(s)	和田, 圭介
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/69728">https://doi.org/10.18910/69728</a>
rights	This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.
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（和田 圭介）	
論文題名	$^{13}\text{C}$ 代謝フラックス解析に基づいた 微生物のNADPH再生および消費の収支に関する研究
論文内容の要旨	
<p>生物は外界から炭素源を取り込み、中心代謝経路上の代謝反応を介して細胞に還元する際に、補酵素として還元力を蓄積する。この還元力は細胞増殖および有用物質の生合成などの酵素反応に消費され、細胞内で循環的に利用されることが知られている。従って、代謝は酸化還元速度に関する制約があると言え、代謝状態を理解する上では酸化型および還元型の補酵素の生成速度に着目した細胞評価が望まれる。細胞内の代謝反応速度（フラックス）は、単位時間あたりの単位菌体量あたりの化学反応量を指し、炭素の安定同位体を用いた生理条件下におけるフラックスの推定技術（<math>^{13}\text{C}</math>代謝フラックス解析）が開発されてきた。<math>^{13}\text{C}</math>代謝フラックス解析は中心代謝経路上の炭素の流れの方向および大きさを明らかにできるため、補酵素の酸化還元速度の評価、ひいては代謝の定量的な理解に寄与する。そこで本学位論文では、栄養条件の異なる2種類の微生物を対象として<math>^{13}\text{C}</math>代謝フラックス解析を行い、補酵素NADPHに着目した細胞評価を通して、微生物の代謝上の問題点の解明に向けた知見の抽出を試みた。</p> <p>本学位論文は第1章から第6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、メバロン酸を生産する大腸菌を例に挙げ、生産株ではメバロン酸生合成に必要なNADPHはトランスヒドロゲナーゼによって生産されることを明らかにした。また、<i>in silico</i>代謝シミュレーション解析と組み合わせることで、ペントースリン酸経路の遮断、TCA回路へのフラックスの制限、およびトランスヒドロゲナーゼによるNADPH生産、などのメバロン酸の高生産化に有効な代謝改変箇所を明らかにした。第3章では、<i>n</i>-ブタノールを生産するシアノバクテリアを例に挙げ、プロテオーム解析および酸素発生速度測定と組み合わせることで、生産株では光化学系によるNADPH生産が低下していることを明らかにした。この結果を踏まえ、<i>n</i>-ブタノール生産によって減少した光化学系のタンパク質の補填によるNADPH生産力の回復などが<i>n</i>-ブタノールの高生産化に有効な代謝改変であることを明らかにした。第4章では、シアノバクテリアの呼吸鎖複合体の遺伝子破壊株を例に挙げ、酸素発生速度測定と組み合わせることで、遺伝子破壊株ではNADPH再生機構である直線的電子伝達経路の稼働率が低下したことを明らかにした。第5章では、本研究の結果を総括し、<math>^{13}\text{C}</math>代謝フラックス解析の周辺技術との結合性、およびNADPHの酸化還元バランスに基づいた代謝システムの評価の有用性を議論した。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 和田圭介 )		
	(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 松田 史生
	副 査	教授 若宮 直紀
	副 査	教授 前田 太郎

## 論文審査の結果の要旨

安定同位体<sup>13</sup>C標識化合物を用いた代謝フラックス解析 (<sup>13</sup>C代謝フラックス解析) は中心代謝経路上の炭素の流れの方向および大きさを明らかにできるため、補酵素の酸化還元速度の評価することができる。本論文では、栄養条件の異なる2種類の微生物である大腸菌とシアノバクテリアを対象として<sup>13</sup>C代謝フラックス解析を行い、補酵素NADPHに着目した細胞評価を通して、微生物の代謝上の問題点の解明に向けた知見の抽出を試みている。

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ている。

第2章では、メバロン酸を生産する大腸菌を例に挙げ、生産株ではメバロン酸生合成に必要なNADPHはトランスヒドロゲナーゼによって生産されることを明らかにしている。また、コンピュータによる代謝シミュレーション解析と組み合わせることで、ペントースリン酸経路の遮断、TCA回路へのフラックスの制限、およびトランスヒドロゲナーゼによるNADPH生産などのメバロン酸の高生産化に有効な代謝改変箇所を明らかにしている。

第3章では、*n*-ブタノールを生産するシアノバクテリアを例に挙げ、プロテオーム解析および酸素発生速度測定と組み合わせることで、*n*-ブタノール生産株では光化学系によるNADPH生産が低下していることを明らかにしている。

第4章では、シアノバクテリアの呼吸鎖複合体の遺伝子破壊株を例に、酸素発生速度測定と組み合わせることで、NADPH再生機構である直線的電子伝達経路の解析を行っている。

第5章では、本研究の結果を総括し、<sup>13</sup>C代謝フラックス解析の周辺技術との結合性、およびNADPHの酸化還元バランスに基づいた代謝システムの評価の有用性を議論している。

以上のように、本論文では、工業微生物の代謝フラックス解析法の開発とこれを用いた還元力の消費と再生のバランスを取り入れた細胞の特徴づけを行って、細胞の改良や細胞の状態の理解への道筋を示しており、工学的、情報科学的に価値ある成果が得られている。よって、本論文は博士(情報科学)の学位論文として価値のあるものと認める。