

氏名（本籍）	稲葉 知大
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	博 甲 第 7352 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科

学位論文題目 *Rhodococcus* 属細菌におけるトレハロース脂質生合成機構の解析

主査	筑波大学教授	博士（工学）	野村 暢彦
副査	筑波大学教授	博士（農学）	高谷 直樹
副査	筑波大学准教授	博士（工学）	橋本 義輝
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	山路 恵子

## 論 文 の 要 旨

界面活性物質は乳化作用や分散、凝集作用と言った様々な性質を持つことから、石油産業や化粧品、食品、土木建築に至る数多くの産業において多用されるキーマテリアルである。産業において使用される界面活性物質はほとんどが化学合成品であるが、近年は環境に対する負荷を低減するため、微生物が生産する界面活性物質、バイオサーファクタント (BS) の利用の期待が高まっている。当研究室で保有する *Rhodococcus* sp. SD-74 株は Succinoyl Trehalose Lipid (STL) と呼ばれるトレハロース脂質型の BS を生産する。STL は既存の BS の中でも高い表面張力低下能を有する優れた界面活性剤である。それに加え SD-74 株は他に類を見ない高いトレハロース脂質生産性を持っているため、本菌における STL 生産機構の解明は、学術的にも産業的にも非常に重要である。そこで本研究では STL の生合成経路を解明することを目的とした。

STL の生合成経路および生産制御機構を探索するにあたり、トランスポゾンを用いたランダム遺伝子破壊による STL 生産関連遺伝子の特定を行った。その結果、STL 非生産株 4 株を取得する事に成功した。そのうちの 3 種は alkane monooxygenase (*alkB*), fructose bisphosphate aldolase (*fda*), acyltransferase (*t1sA*) であると推定され、STL の生合成に直接関係している可能性が示唆された。T1sA に関しては詳細な機能は未だ不明であるが、AlkB および Fda に関しては活性を含めた同定が行われ、STL の生合成経路の推定に至った。さらに 3 種の合成遺伝子について転写調節を行い、*t1sA* の発現量を増加させる事で、STL の生産量を野生株の 200%まで増加させた株を作成する事に成功した。

また、残りの 1 種は種々の遺伝子の転写制御を行う二成分制御系の sensor kinase (*t1rB*) であると推定された。さらなる解析の結果、STL の生産は T1rB およびその対となる response regulator T1rA により制御

されている可能性が示唆された。二成分制御系による環境に応答したトレハロース脂質の生産制御は初めての報告である。

本研究により、*Rhodococcus* 属細菌において初めてトレハロース脂質の生合成に関わる遺伝子の特定に至った。また、トレハロース脂質の生産制御に二成分制御系が関与している事が世界で初めて明らかとなった。*Rhodococcus* 属細菌の生産するトレハロース脂質は界面活性物質としての高い界面活性能力だけではなく、抗腫瘍活性や抗ウイルス活性も認められる有用物質であり、本研究はその応用化に大きな寄与をするもので農芸化学分野において貢献が期待される。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、*Rhodococcus* 属細菌において初めてトレハロース脂質の生合成に関わる遺伝子の特定に至った。さらに、それらの遺伝子情報の知見をもとに、得られた遺伝子の強発現にも成功し結果的にバイオサーファクタント STL を 80 g/L (親株の 2 倍) まで生産性を向上させた。また、学術的にもトレハロース脂質は細菌の分類の指標にもなっているにもかかわらず、その生合成機構は一部の細菌を除いて不明のままであった。しかし、本成果により工業的あるいは環境常在菌としても認知されている *Rhodococcus* 属細菌でその経路を明らかに出来たことは評価できる。また、それらの生合成機構が細菌の環境応答で重要な膜に存在する二成分制御系により制御されていることを明らかにしている。特に、STL を制御する新たな二成分制御系のセンサーおよびレスポンスレギュレーターを見いだしており、これまでバイオサーファクタント特に糖脂質型のものが、そのような二成分制御系の制御下にあることは興味深く、今後学術および応用に寄与することが期待される。

以上のように、本論文で、*Rhodococcus* 属細菌において初めてトレハロース脂質の生合成機構を明らかにしかつその知見を利用しバイオサーファクタントの生産性を 2 倍に上昇させた成果が得られ、産業への応用、科学的かつ技術的助言が提供できる点そして学術的な面にもいってもオリジナリティに富む研究として高く評価できる。

平成 27 年 1 月 22 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。