

学位論文の審査結果の要旨

本研究は、遺伝子改変によるシアノバクテリアのイソプレノイド生合成能の向上を目指したものである。イソプレノイドは、医薬品原料、エネルギー物質などの有用物質を多く含む化合物群であり、遺伝子組み換え微生物による大量生産が検討されている。イソプレノイド生合成能向上には、その合成の初期経路である非メバロン酸経路（MEP経路）の律速酵素の一つである1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthases（DXS）の過剰発現が有効と考えられてきた。そのため、まずシアノバクテリアのDXS過剰発現株を作出し、遺伝子発現解析やタンパク質分析、細胞成分解析を行った結果、*dxs*遺伝子発現レベルは約4倍、DXSタンパク質レベルは約1.5倍に改善することに成功した。続いて、クズ由来イソプレン合成酵素を導入することで、イソプレンを放出するシアノバクテリアの作出に成功した。また活性炭チューブを用いることで、イソプレン生産株からの効率的なイソプレン回収方法開発にも成功した。上記の実験において、過剰発現させたDXSの多くが不溶化されていることが明らかになったことから、内在性DXSの過剰な発現はシアノバクテリア内翻訳後調節機構に摂動を与え、不溶化を促進する事が初めて示唆された。MEP経路強化には、より高活性かつ高安定な異種DXSの発現が必須であると考え、異種生物からの種々のDXSのキャラクタリゼーションを行い、安定で且つフィードバック阻害耐性のDXSを見出すことに初めて成功した。

これらの知見は、シアノバクテリアの産業利用開発において重要であり、シアノバクテリア変異株の分子レベルで解析結果等は、学術的価値は高いと判断される。本論文を構成する主要な内容は、すでに3報は英文誌に掲載済み、もしくは掲載予定となっている。平成29年1月26日に実施した公開発表会では、伊那キャンパスで定める申合せ（筆頭著者である論文が2編以上）をクリアしていることが確認された。以上のことから、本論文は博士（農学）論文に値するものであるとの結論に達した。

公表主要論文名

- **Kai Kudoh**, Yusuke Kawano, Shingo Hotta, Midori Sekine, Takafumi Watanabe, Masaki Ihara: Prerequisite for highly efficient isoprenoid production by cyanobacteria discovered through the over-expression of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase and carbon allocation analysis. *J. Biosci. Bioeng.*, vol.118, pp.20-28, 2014.
- **Kai Kudoh**, Genma Kubota, Rintaro Fujii, Yusuke Kawano, Masaki Ihara: Exploration of the 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthases suitable for the creation of a robust isoprenoid biosynthesis system. *J. Biosci. Bioeng.*, vol.123,

pp300-307, 2017.

- Kai Kudoh, Shingo Hotta, Midori Sekine, Rintaro Fujii, Arisu Uchida, Genma Kubota, Yusuke Kawano, Masaki Ihara: Overexpression of endogenous 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (DXS) in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 accelerates protein aggregation. *J. Biosci. Bioeng.*, doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.01.001, in press.