

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	Thelhawadigedara Lahiru Niroshan Jayakody
審査委員	主査 佐賀大学 准教授 北垣 浩志
	副査 佐賀大学 教授 林 信行
	副査 鹿児島大学 教授 玉置 尚徳
	副査 鹿児島大学 教授 杉元 康志
	副査 佐賀大学 教授 渡邊 啓一
審査協力者	
題目	Engineering of yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain appropriate for production of bioethanol from hot-compressed water-treated lignocelluloses. (加圧熱水処理リグノセルロースからのバイオエタノールの生産に適した酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> の育種)
<p>再生可能エネルギーであるバイオエタノールはアメリカ、ブラジルにおける社会実験を経て化石燃料と共存可能であることが実証された、数少ないバイオマス由来エネルギーである。その中でもリグノセルロースからのバイオエタノールの生産は食糧資源と競合しないことから、その製造効率の向上が世界中で求められている。</p> <p>バイオエタノールの製造のためにセルロースを分解する方法にはいくつかの方法がある。ひとつは硫酸分解で、コストが安いという利点があるが、多量の産業廃棄物を生じたり、フルフラールや5-ヒドロキシメチルフルフラールなどの発酵阻害物質を生じてしまうという問題があった。酵素分解は発酵阻害物質を生じないが、コストが高く反応速度が遅いという問題があった。最近開発されてきた加圧熱水処理は200-300℃の加圧熱水でセルロースを処理する方法であるが、コストが大規模になれば安く、反応速度も速く、多量の産業廃棄物を生じないという利点があるが、未知の発酵阻害物質が生じてしまうという問題があった。</p> <p>我々は、この未知の発酵阻害物質が、糖の逆アルドール縮合で生じるグリコールアルデヒドであることを初めて見出した。グリコールアルデヒドは濃度に依存して酵母の発酵を阻害する</p>	

ことを明らかにした。

さらにPLS回帰の手法を使って、グリコールアルデヒドはさまざまな発酵阻害物質の存在下でも発酵阻害効果を示し、かつその効果は他の発酵阻害物質と比べても強く、交互作用効果が統計的に有意に観察されることを明らかにした。

グリコールアルデヒドの化学構造がアセトアルデヒドに似ていることに着目し、アセトアルデヒドのNADH依存的還元酵素をコードする*ADHI*の遺伝子を酵母で高発現した株を作成したところ、グリコールアルデヒドに耐性を示すことがわかった。

この株はまだ完全に耐性が完全していなかったため、酸化還元バランスが崩れているために耐性を賦与できないのではないかと考え、NADPH依存的な酸化還元酵素をコードする*GRE2*に着目した。その遺伝子破壊株は、確かにグリコールアルデヒドに顕著な感受性を示したことから、*GRE2*を高発現する株を作成したところ、グリコールアルデヒドへのさらなる耐性を示した。

しかしながらこれらの株では、最大のエタノール生成濃度は高いものの、増殖初期の遅延を解消できないでいた。そこでその原因を探るため、ゲノム網羅的な遺伝子発現解析を行ったところ、タンパク質の構造の変性に関わる遺伝子が多く高発現していた。また各種発酵阻害物質に感受性を示す遺伝子破壊株を網羅的に取得し、それらの発酵阻害物質感受性を調べてPCA解析したところ、変性したタンパク質の分解を助けるSUMOタンパク質の修飾に関わる遺伝子破壊株が他の株とは異なる座標に位置した。これらのことから、SUMOは他のタンパク質とは異なるメカニズムで発酵性を改善しようと考え、SUMOタンパク質の遺伝子を高発現した株を作成したところ、各種発酵阻害物質存在下での増殖遅延が解消された。その原因を探ると、解糖系のタンパク質が確かにSUMO化され、発酵阻害物質を与えることで分解されていた。また、グルコースの取り込み速度は発酵阻害物質存在下で減少していたが、SUMOタンパク質高発現株ではそれが改善していた。これらのことから、発酵阻害物質の存在下ではSUMOに依存して変性したタンパク質を分解しており、SUMOを高発現することでその回転が改善してグルコースの取り込みや解糖系のフラックスが増加することで発酵性が改善すると考えられた。

以上の研究は、グリコールアルデヒドを発酵阻害物質として初めて発見し、それに基づいて発酵阻害物質の混合物の毒性解除に、NADH/NADPHの同時酸化還元システムを導入することで成功し、さらに網羅的解析を組み合わせ、SUMO化に着目するというこれまでにないアプローチを採用して発酵阻害物質の存在下での増殖遅延の解消に成功したものであり、新規性が高いと評価できた。

よって、本論文は、博士（農学）の授与に十分な価値があるものと判定した。