



Title	Mechanistic Analysis of Monomer Sequence Determination in Polyhydroxyalkanoate
Author(s)	柳川, 謙吾
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第16876号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16876
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99721
Type	doctoral thesis
File Information	YANAGAWA_Kengo_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（工学） 氏名 柳川 謙吾

審査担当者	主査	教授	佐藤 敏文
	副査	特任教授	坂口 和靖
	副査	教授	渡慶次 学
	副査	准教授	小笠原 泰志
	副査	教授	松本 謙一郎

学 位 論 文 題 名

Mechanistic Analysis of Monomer Sequence Determination in Polyhydroxyalkanoate
(ポリヒドロキシアルカン酸のモノマー配列決定機構の解析)

生分解性プラスチックとして知られているポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) は、微生物細胞内で種々の hydroxyacyl-CoA を基質として重合酵素 (PhaC) により合成される。PhaC の基質特異性が PHA のモノマー構造を決定するため、PHA 合成における重要な酵素である。人工改変型重合酵素 PhaC_{AR} はモノマーの組合せに依存して、ブロックおよびランダム共重合体を合成することが見出されている。ブロック共重合体の合成反応では、PhaC_{AR} が反応中に自発的に基質を切り替え、反応の前半と後半で全く異なるポリマーを合成するという、これまでに報告のない反応メカニズムが存在すると予想される。一方、ランダム共重合体の合成条件では、ランダム共重合条件でしか重合されないモノマーが存在することから、複数のモノマーが協調して重合される機構の存在が予想された。本学位論文は、PhaC_{AR} の詳細な反応解析により、これらのモノマー配列がどのように形成されているかを分子レベルで明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、PHA の合成機構、PhaC の基質特異性および共重合挙動に関する先行研究が整理され、本研究の位置づけと課題が明確に示されている。特に、PHA 生合成の従来研究ではモノマー構造制御に主眼が置かれていたのに対し、従来不可能と考えられてきたモノマー配列制御から材料の高機能化が可能であるという、全く新しい PHA の高分子設計についての新規性と重要性が示され、本研究の意義が明確にされた。

第 2 章では、ブロック共重合反応の解析に不可欠な in vitro 解析系の構築が行われた。従来用いられてきた LC/MS 法に加え、リアルタイム NMR 法を PhaC 解析に初めて応用し、複数基質存在下での基質消費挙動を高感度かつ連続的に解析可能な系を確立し、これまで未知であった副反応の存在など、PhaC の重合反応全体の定量的かつ定性的な理解に貢献した。これにより、PhaC_{AR} による共重合反応において poly(3-hydroxybutyrate) [P(3HB)] セグメントが poly(2-hydroxybutyrate) [P(2HB)] セグメントに先行して合成されることが実験的に示された。

第 3 章では、PhaC_{AR} によるブロック共重合体合成機構の解明がなされた。反応途中で基質特異性が変化するという仮説のもと、3HB-CoA との反応後にはのみ 2HB-CoA に対する活性が出現する現象を見出し、これを「Maturation」と定義した。さらに、重合度を制御した 3HB オリゴマーを用いた精密なプライミング実験により、Maturation が P(3HB) 鎖の伸長に伴って段階的に進行することを明らかにした。また、混合基質条件下での活性阻害挙動の解析から、反応後半で合成されるセグメントがホモポリマーとなる理由が、基質間阻害に起因することを示唆し、ブロック共重合体形成における配列制御が単なる基質選択性ではなく、複雑な基質相互作用によって達成されていることを明らかにした。

第 4 章では、ランダム共重合体が生成する条件について検討が行われた。PhaC_{AR} と人工設計酵素との比較を通じて、長鎖非天然基質である 6-hydroxyhexanoyl-CoA 単独重合能の有無が酵素構造に

由来する反応性の違いに起因する可能性が示され、重合様式の違いを生む要因に関する新たな視点が提示された。これは、従来提案されていた合成機構とは異なるものであり、今後の PHA 重合酵素の分子設計に向けた重要な基盤的知見を得た。

本論文は、これまで全く検討されてこなかった「PHA 分子鎖の合成途中における酵素機能の動的変化」に着目し、精密な実験設計によって、PHA 配列制御機構の本質に迫った点に大きな特色がある。これらの成果は、PHA の高分子設計の自由度を高め、材料物性の制御や応用展開を拡張する基礎となるだけでなく、反応機構の理解の深化に大きく寄与するものと評価される。

これらを要するに、著者は、PHA 合成酵素 PhaC_{AR} における配列制御機構について多くの新知見を得たものであり、生体触媒工学および高分子材料科学の進展に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（工学）の学位を授与される資格あるものと認める。