

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 川合 理恵

担子菌が保有する木材成分分解酵素に関してはこれまでに多くの研究がなされてきた。しかしながら、これらの酵素の分泌や局在性に重要な意味を持つと考えられる担子菌細胞壁の構造形成や分解などに関する知見は限られている。このような背景から、最近になって全ゲノム情報が開示された担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* を題材にして、申請者は担子菌細胞壁の主要成分である β -1, 3-, 1, 6-グルカンの代謝に関わる多様なグルカン加水分解酵素について、 β -1, 3-, 1, 6-グルカン構造形成ならびに分解という観点を考慮に入れて、それぞれの酵素機能について研究を推進させた。

申請者の論文は5章から構成されており、第1章は序論である。ここでは、糸状菌の細胞壁の中での β -1, 3-, 1, 6-グルカンの位置付け、その構造、さらに生理的な機能について概説的に述べている。また、これらのグルカン代謝に関わると考えられる β -1, 3-グルカナーゼについて、既往の研究例に基づき、その分布、構造的分類ならびに酵素機能に関して解説し、その上で β -1, 3-主鎖および β -1, 6-側鎖構造に対する β -1, 3-グルカナーゼの認識特性の解析が β -1, 3-, 1, 6-グルカン構造の形成や分解制御の解明にとって必要性が高い課題であることを示し、したがってこのことを本研究の目的として掲げている。

第2章から第5章までは本研究に関する本論である。第2章では、研究を進めるにあたっての実験方法について説明している。第3章と第4章では、本研究の結果ならびに考察について述べている。第5章では、以上の研究全体の総括を行っている。

申請者は、まず海藻由来の β -1, 3-, 1, 6-グルカンであるラミナリンを基質とした *P. chrysosporium* の培養系で生産される3種の主要な β -1, 3-グルカン分解酵素について、同一の培養系から取得した mRNA に基づき、それに対応する遺伝子を cDNA としてクローニングした。さらに、それぞれの cDNA を pPIC 系発現ベクターに組み込み、これらをメタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* で組換え体として生産した。また、それぞれを Bgl3A, Lam16A および Lam55A と命名した。この一連の実験において、申請者が担子菌のゲノム情報を利用した簡便な cDNA クローニングと *P. pastoris* の発現系を利用した組換え酵素の効率的な生産を確立したことは、今後の担子菌由来の菌体外酵素の研究展開において大きく貢献するものと思われる。

また、組換え酵素を利用して申請者が得た β -グルカナーゼの機能解析の主要な成果には以下の通りである。

Bgl3A はラミナリオリゴ糖およびラミナリンを加水分解して β -グルコースを生成物として与える酵素であるが、同時に 6-O-グルコシルラミナリビオースを糖転移生成物として与える酵素であることを明らかにした。また、Bgl3A のラミナリビオースに対する基質阻害は同酵素の糖転移活性に起因するものであることを定量的に示した。

Lam16A はトリオース以上の鎖長を有するラミナリオリゴ糖を加水分解できる加水分解酵素であり、生成物としてラミナリビオースを与えることを明らかにした。また、ラミナリンに作用させるとラミナリビオースに加えて、6-*O*-グルコシル-ラミナリトリオースを分解生成物として定量的に与えることを示し、本酵素の β -1,6-側鎖に対する制限特性について明らかにした。

Lam55A は β -1,3-グルカン鎖を非還元末端側から順次 α -グルコースを切り出すエキソ型の加水分解酵素であることを明らかにした。また、ラミナリンのように β -1,6-側鎖を有する化合物が基質の場合は α -ゲンチビオースを生成物として定量的に与えることを示し、本酵素が β -1,6-側鎖の影響を受けずに β -1,3-主鎖を完全分解することを明らかにした。さらに、Lam55A によるラミナリオリゴ糖の加水分解反応においては、各重合度別の反応生成物量を経時的に解析することにより、グルカン分子鎖に対して本酵素が連続的な加水分解反応を行うプロセシビティ高い反応特性を有することを定量的に示した。

以上のように、担子菌 *P. chrysosporium* が生産する多様な菌体外 β -1,3-グルカナーゼの酵素機能を解析する中で、申請者はいくつかの重要な新知見を得ることに成功しており、このことは糖質関連加水分解酵素の研究分野において十分な実績を上げたとともに、本研究の成果は今後の研究展開に大きく寄与できるものと考えられる。なお、本論文に関する学術成果については、すでに4報の英文学術誌に掲載されている。よって、審査委員一同は、本研究内容の学術的貢献は高いと評価し、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。