

ふりがな	かわせ ともかず
氏名	川瀬 智一
学位	博士(農学)
学位記番号	新大院博(農)第55号
学位授与の日付	平成16年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	<i>Actinobacteria</i> のファミリー19 キチナーゼに関する研究

論文審査委員	主査 教授	渡邊 剛志
	副査 教授	仲川 洋治
	副査 教授	堀 秀隆
	副査 教授	星野 力
	副査 助教授	二階堂 直樹

## 博士論文の要旨

*Streptomyces* 属の放線菌はファミリー18と19に属する複数のキチナーゼ遺伝子を有し、それらを誘導的に発現している。申請論文の研究は、放線菌のファミリー19 キチナーゼに着目し、その機能と進化に関する知見を得ることを目的として行われた。その成果は以下のように要約できる。

### 1) *Streptomyces griseus* HUT6037 キチナーゼ C の大量発現系の構築とその性質の解析

*S. griseus* HUT6037 のキチナーゼ C は高等植物以外ではじめて見出されたファミリー19 キチナーゼである。このキチナーゼ C の大量発現系を構築し、発現・精製し、その性質を調べた。キチナーゼ C は水溶性基質に対して非常に高い分解活性を示すが不溶性基質をほとんど分解しないこと、キチナーゼの阻害剤であるアロサミジンによって阻害されないことなどの性質が明らかとなった。

### 2) *S. griseus* HUT6037 のファミリー18 キチナーゼ遺伝子の検出

*Streptomyces lividans* 66 の *chiA*, *chiB*, *chiC* をプローブとして、*S. griseus* HUT6037 のファミリー18 キチナーゼ遺伝子の検出を試みた。その結果、3つのファミリー18 キチナーゼ遺伝子 (*chiI*, *chiII*, *chiIII*) の検出とクローン化に成功し、*S. griseus* HUT6037 がファミリー19 キチナーゼであるキチナーゼ C に加えて、複数のファミリー18 キチナーゼ持つことがわかった。

### 3) *Streptomyces coelicolor* A3(2) の4つのキチナーゼの性質

ゲノム配列の解析によって、*S. coelicolor* A3(2) はファミリー18 キチナーゼ遺伝子を11、ファミリー19 キチナーゼ遺伝子を2つ有していることがわかった。この中で、キチン存在下で高発現していた *chi18aC*, *chi18aD*, *chi18bA* および *chi19F* がコードするキチナーゼを、大

腸菌を用いて生産して性質を調べた。水溶性基質に対しては Chi19F が、不溶性あるいは結晶性の基質に対しては Chi18aC が最も高い分解活性を示した。また、Chi19F のみが顕著な抗真菌活性を示し、2つのファミリーのキチナーゼの性質に大きな違いがあることが明らかとなった。

#### 4) *Actinobacteria* におけるファミリー19 キチナーゼ遺伝子の分布とその系統解析

ファミリー19 キチナーゼの分布を調べるために、*Actinobacteria* に属する 49 菌株を対象としてファミリー19 キチナーゼ遺伝子を検索した。49 菌株中 22 菌株がキチナーゼ生産能を有し、その中の 13 菌株にファミリー19 キチナーゼ遺伝子が検出された。これら 13 菌株は order *Actinomycetales* の 10 の suborder のうち 6 つに属しており、ファミリー19 キチナーゼ遺伝子が *Actinobacteria* に広く分布している事が明らかとなった。また、*Actinobacteria* のファミリー19 キチナーゼは高等植物のクラス IV キチナーゼと系統学的に非常に近い関係にあることが示された。これらの結果から、ファミリー19 キチナーゼ遺伝子は、まず *Streptomyces* 属の放線菌の祖先によって植物から獲得され、その後他の *Actinobacteria* に水平伝播により移っていた可能性が示された。

#### 審査結果の要旨

申請論文の研究は、放線菌のファミリー19 キチナーゼに着目し、1) ファミリー18 キチナーゼとの酵素化学的性質の違い、2) 放線菌が含まれる *Actinobacteria* におけるファミリー19 キチナーゼの分布、3) 放線菌ファミリー19 キチナーゼと他の生物のファミリー19 キチナーゼとの系統関係、などを明らかにし、ファミリー19 キチナーゼの役割を解明することを最終的な目的として行われたものである。

この研究によって、一つの放線菌に由来するファミリー18 キチナーゼとファミリー19 キチナーゼの性質に非常に大きな違いがあることが明らかとなり、2つのファミリーのキチナーゼが機能的に異なる役割を担っていることが強く示唆された。また、ファミリー19 キチナーゼが *Actinobacteria* に分散して広く分布していることや、高等植物のクラス IV キチナーゼと特に類似していることがわかった。そして、細菌のファミリー19 キチナーゼは、まず *Streptomyces* 属の放線菌の祖先によって獲得され、それが他の *Actinobacteria* に水平伝播によって拡散した可能性が示唆された。

これらの研究成果は、見いだされて間もない細菌のファミリー19 キチナーゼに関する知見を飛躍的に充実させるものであり、その意義はきわめて大きい。よって、本申請論文は博士(農学)の学位論文として十分な内容を持つものと判定した。