

ふりがな	とらたに ただゆき
氏名	虎谷 忠幸
学位	博士 ( 農学 )
学位記番号	新大院博 ( 農 ) 第 83 号
学位授与の日付	平成 20 年 3 月 24 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	細菌のキチン分解利用機構の解析

論文審査委員	主査 教授 渡邊 剛志
	副査 教授 星野 力
	副査 教授 堀 秀隆
	副査 准教授 鈴木 一史

### 博士論文の要旨

キチナーゼを生産する細菌は、自然界で毎年膨大な量生産される結晶性難分解性の多糖であるキチンを分解し、その構成要素を生態系の中で循環させる上で、大変重要な役割を果たしている。申請論文の研究は、遺伝学および生化学的手法を用いて細菌のキチン分解利用機構を解明することを目的として行われた。その内容は、以下のように要約することができる。

### *Serratia marcescens* のキチン分解物質化におけるキトビアーゼと GlcNAc パーミアアーゼの役割

*S. marcescens* が生産するキチナーゼは、キチンを分解して主としてキトビオース (GlcNAc)<sub>2</sub> を生ずる。この (GlcNAc)<sub>2</sub> の資化における、キトビアーゼの役割を明らかにすることを試みた。キトビアーゼは菌体内に多く存在しており、特にペリプラズムに局在することが強く示唆された。また、その発現には (GlcNAc)<sub>2</sub> の取り込みが重要であることが分かった。そして、(GlcNAc)<sub>2</sub> は、(GlcNAc)<sub>2</sub> 特異的 PTS パーミアアーゼから取り込まれる以外に、キトビアーゼにより分解されて GlcNAc 特異的 PTS パーミアアーゼから取り込まれるものがあることが証明された。これらのことから、(GlcNAc)<sub>2</sub> の効率的な利用には (GlcNAc)<sub>2</sub> と GlcNAc の両方の取り込みが重要であることがわかった。

### *ybfM* 遺伝子とキチナーゼ発現の関係

キトビアーゼ遺伝子の近傍を解析した結果、キトビアーゼ遺伝子はその上流にある *ybfM*、*ybfN* とオペロンを形成していることが明らかとなった。*ybfM* 遺伝子にキチナーゼ発現に関与

する領域があることがわかったため、その領域の特定を試みた。その結果、*ybfM* 転写産物の 5' -UTR がキチナーゼ発現に必要であることが明らかとなった。次に、(GlcNAc)<sub>2</sub> 特異的 Enzyme II A をコードする遺伝子 *chbA* の同定を試みた。その結果、大腸菌 ChbA と相同の蛋白質をコードする ORF を見だし、それが *chbA* であることを証明した。

#### ***Bacillus circulans* WL-12 由来キチナーゼ A1 の全長構造の解明**

*B. circulans* キチナーゼ A1 は高い結晶性キチン分解活性を持つキチナーゼであり、N 末端側から活性ドメイン、2 つのフィブロネクチンタイプ III 様ドメイン、キチン吸着ドメインから構成されている。これまでに各ドメインの高分解能の立体構造が明らかにされているが、分子全体の構造は明らかにされていない。そこで、X 線小角散乱法を用いて溶液中に存在するキチナーゼ A1 の全体構造の解明を試みた。その結果、キチナーゼ A1 の慣性半径は  $40.0 \pm 0.7 \text{ \AA}$ 、最大径は  $145 \pm 5 \text{ \AA}$  で、全体的に伸びた構造をしており、2 つの FnIIID の存在により、CatD と ChBD の間は約  $75 \text{ \AA}$  離れていることが分かった。

#### **審査結果の要旨**

申請論文の研究は、*Serratia marcescens* と *Bacillus circulans* をモデルとして、細菌のキチン分解利用機構を解明することを目的として行われたものである。*S. marcescens* が生産するキチナーゼによってキチンが分解されると、*N*-acetylglucosamine の 2 糖であるキトビオース (GlcNAc)<sub>2</sub> を生ずる。本研究によって、このキトビオースの取り込み利用が、(GlcNAc)<sub>2</sub> 特異的 PTS パーミアーゼで取り込まれる経路と、キトビオースにより分解されて GlcNAc 特異的 PTS パーミアーゼから取り込まれる経路の、二つの経路によって効率的におこなわれることが明らかにされた。また、キトビオース遺伝子は、その上流にある *ybfM* および *ybfN* とオペロンを形成しており、*ybfM* 遺伝子の 5' -UTR がキチナーゼ発現に必要であることがわかった。さらに、X 線小角散乱法によって、高い結晶性キチン分解能を持ち 4 つのドメインからなる *B. circulans* WL-12 由来キチナーゼ A1 の全長構造が決定された。

本論文に述べられているこれらの研究成果は、細菌による結晶性キチン分解利用機構に関して、画期的な知見を与えるものであり、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。