

学位論文の審査結果の要旨

バイオマスの分解において、酵素が植物細胞壁に吸着するステップは最も重要と考えられており、それに関与するタンパク質の構造と機能を研究することは意義深いと考えられる。本論文は、上記の研究成果について以下のような構成でまとめられている。

第1章では、まずバイオマス分解におけるセルロース吸着タンパク質 (CBM: Cellulose Binding Module) の役割を述べ、その構造と機能について解説し、その後本論文における研究目的を述べている。

第2章では、アラゲカワラタケおよびウスバタケのエキソおよびエンドグルカナーゼのセルロース吸着能に着目し、セルロースに対するタンパク質の吸着能力において、各種塩濃度や温度に対する吸着挙動の違いを明らかにしている。この手法は次章での吸着タンパク質の分離に活かされている。

第3章では、バイオマス分解能力に優れた菌である *Irpex lacteus* の市販酵素剤 Driselase から、種々のセルロース吸着タンパク質を分画し、中でも不可逆的にセルロースに吸着するタンパク質があることを見出した。このタンパク質の部分アミノ配列を解析し、この成分が GH ファミリー10 に属するキシラナーゼ (Xyn10B) であることを明らかにしている。また、このタンパク質を異種発現生産しようとしたが困難であったため、Xyn10B を粗酵素剤から精製し、その性質を明らかにした。特に、同じファミリーに属する *Trichoderma* 由来の CBM を持たないキシラナーゼに比較して、バイオマス分解能力に優れることを示した。

第4章では Xyn10B の高吸着の原因について、他のセルロース吸着タンパク質の吸着部位のアミノ酸配列を比較し、部位特異的変異の手法から、高吸着に関与する特徴的なアミノ酸 (チロシン残基) を特定した。この配列は、従来から提唱されている3つの芳香族アミン酸に加えて、さらに追加の芳香族を加えた特徴的なモチーフ構造 (WYYY 型) を有することを明らかにした。またこの構造の立体構造予測から、3つの芳香族アミノ酸から形成される疎水性のフラットな面に加えて、反対側の面にも新たな疎水性の部位を作っていることを予測した。このようなことから、セルロースに対する吸着がタンパク質同士が緩やかに凝集して起こることを示した。

最終的には第5章で、立体構造予測から高吸着の原因を議論すると共に、特徴的なモチーフ構造を持つ酵素を GH ファミリーに登録されている酵素について検索し、これらの配列はヘミセルラーゼに多いことを明らかとしている。さらに、触媒部位の機能と吸着部位の吸着の強さについての議論を行い、新しい考えを提唱している。

以上のことから、本博士論文はバイオマス分解における基質への吸着とその分解酵素の触媒機能との関連において重要な知見を提唱しており、博士論文として相応しい内容を含んでおり、学位論文審査に値すると判断する。

公表主要論文名

- 1) [Hiroto Nishijima](#), Kouichi Nozaki, Masahiro Mizuno, Tsutomu Arai, and Yoshihiko Amano : Extra tyrosine in the carbohydrate-binding module of *Irpex lacteus* Xyn10B enhances its cellulose-binding ability. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, DOI: 10.1080/09168451.2014.996203 (2015). Published online: 03 Jan 2015.
- 2) Kouichi Nozaki, [Hiroto Nishijima](#), Tsutomu Arai, Masahiro Mizuno, Nobuaki Sato, and Yoshihiko Amano: Regulation of Adsorption Behavior of Carbohydrate-Binding Module Family 1 and Endo- β -1,4-Glucanase onto Crystalline Cellulose. *Journal of Applied Glycoscience*, **58**, 133-138 (2011).