

論文の内容の要約

氏名	梅澤 究
学位の種類	博士 (農学)
学府又は研究科・専攻	連合農学研究科 環境資源共生科学 専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文名	糖質代謝に関わるピロロキノリンキノン依存性 Auxiliary Activities ファミリー12 酵素の酵素学的機能に関する研究

【論文の内容の要約】

本研究では、糸状菌におけるセルロース分解への関与が予想される新規酸化還元酵素である、ピロロキノリンキノン(PQQ)依存性ピラノース脱水素酵素(CcPDHA)の生理的役割を明らかにすること、および CcPDHA において初めて見いだされた、糖質関連酵素データベース(CAZy)にて Auxiliary Activities(AA)ファミリー12 ドメインに分類される、新規 PQQ 依存性酵素群の酵素学的機能の多様性を明らかにすることを目的として研究を行った。

第二章では、CcPDHA のファミリー9 溶解性多糖モノオキシゲナーゼ(LPMO9)への電子供給能を評価した。その結果、CcPDHA は LPMO9 に対して高い電子供給能を示したことから、LPMO9 の電子供与体として働きうることが示唆された。さらに、CcPDHA のドメイン欠損体を用いた実験から、本酵素は AA8 ドメインを通じて LPMO9 に電子伝達していること、および本酵素におけるファミリー1 糖質結合モジュール(CBM1)は、結晶性セルロースに対する LPMO9 の活性化を促進する働きをしていることが示唆された。

第三章では、*Coprinopsis cinerea* の有する CcPDHA ホモログのうち、特徴的なアミノ酸配列を有する 2 種類の酵素(CcPDHB, CcPDHC)の機能解析を行った。ユニークな配列の CBM1 を有する CcPDHB は、CcPDHA と同様の基質特異性を示したが、その活性は非常に弱く、また、セルロースへの明確な吸着能を示さなかった。一方、AA12 ドメインの推定触媒残基であるヒスチジンが、グルタミンに置換されていた CcPDHC は、種々の基質に対する活性測定の結果、いずれの基質に対しても活性を示さなかった。

第四章では、グラム陰性菌 *Pseudomonas aureofaciens* における CcPDHA ホモログ(Pa2KGDH)の機能解析を行った。CcPDHA が数種のピラノースに対して高い活性を示したのに対して、本酵素は 2-ケト-D-グルコースに特異的に活性を示した。また、¹H-NMR から、本酵素の反応生成物は、CcPDHA と同様に 2-ケト-D-グルコン酸であることが示された。

本研究から、CcPDHA の生理的役割は LPMO9 への電子伝達にあることが示唆された。一方で、細菌類の AA12 ホモログも CcPDHA と同様に 2-ケト-D-グルコースを最適基質とし、2-ケト-D-グルコン酸を生成する機能を有していたことは、微生物界において 2-ケト-D-グルコース代謝系が広く存在していることを示唆した。