

氏名	向井 和久
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博乙第4113号
学位授与の日付	平成18年 3月24日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	<i>Arthrobacter globiformis</i> 由来環状四糖生成酵素に関する研究
論文審査委員	教授 稲垣 賢二 教授 木村 吉伸 助教授 田村 隆

学位論文内容の要旨

デンブunから新規オリゴ糖を生成する微生物を土壌から検索した結果、いずれも *Arthrobacter globiformis* と同定された環状オリゴ糖生産菌A19株とM6株を得た。A19株によって生成する環状糖は、グルコース4分子が α -1,3結合と α -1,6結合とを交互に繰り返した既知環状四糖のシクロアルタナン(CA)と同定されたが、CA生産菌としては *Bacillus* 属細菌以外では初めての知見である。一方、M6株によって生成する環状糖は、グルコース4分子が α -1,4結合と α -1,6結合とを交互に繰り返した新規環状四糖であることを明らかにし、環状マルトシルマルトース(CMM)と命名した。本研究では、*A. globiformis* A19株およびM6株の生産する環状四糖生成酵素について酵素的ならびに遺伝子的解析を行うことを目的とした。

A19株の生産する環状四糖CAは、*Bacillus* 属細菌同様に、6- α -グルコシルトランスフェラーゼ(6GT)と3- α -イソマルトシルトランスフェラーゼ(IMT)の共同作用によりデンブunから生成することを明らかにした。IMTの性質は、酵素的および遺伝子的に *Bacillus* 由来酵素と類似していたが、6GTは *Bacillus* 由来酵素よりも分子量が小さく、高い最適pH、最適温度、熱安定性など異なる性質を示し、また、6GT間のアミノ酸配列の相同性も低かった。

一方、M6株の培養液上清からCMM生成に関与する酵素を精製し、諸性質を決定するとともに、CMMの生成メカニズムを解明した。本酵素は、重合度3以上の α -1,4グルカンにエキソ型に作用して、マルトース単位で分子間および分子内 α -1,6転移反応を触媒することによりCMMを生成する新規糖転移酵素であることを明らかにし、6- α -マルトシルトランスフェラーゼ(6MT)と命名した。6GTとIMTの2種類の糖転移酵素によって生成するCAとは異なり、CMMは1種類の酵素によって生成することがわかった。また、6MTのアミノ酸配列中には、 α -アミラーゼファミリーに共通して存在する4つの保存領域および触媒残基と推定される3つの酸性アミノ酸残基が認められ、6MTは本ファミリーに属する酵素であることが示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者の研究は、土壌細菌 *Arthrobacter globiformis* の生産する環状四糖生成酵素について酵素的ならびに遺伝子的解析を行ったものである。申請者は、デンプンの高度利用を目的として、デンプンから新規オリゴ糖を生成する微生物を土壌から検索した結果、いずれも *A. globiformis* と同定された環状オリゴ糖生産菌 A19 株と M6 株を単離した。A19 株によって生成する環状糖は、グルコース 4 分子が α -1,3 結合と α -1,6 結合とを交互に繰り返した既知環状四糖のシクロアルタナンと同定されたが、シクロアルタナン生産菌としては *Bacillus* 属細菌以外では初めての知見である。一方、M6 株によって生成する環状糖は、グルコース 4 分子が α -1,4 結合と α -1,6 結合とを交互に繰り返した新規環状四糖であることが明らかとなり、環状マルトシルマルトース (CMM) と命名した。

A19 株の生産する環状四糖シクロアルタナンは、*Bacillus* 属細菌同様に、6- α -グルコシルトランスフェラーゼ (6GT) と 3- α -イソマルトシルトランスフェラーゼ (IMT) の共同作用によりデンプンから生成することを明らかにした。IMT の性質は、酵素的および遺伝的に *Bacillus* 由来酵素と類似していたが、6GT は *Bacillus* 由来酵素よりも分子量が小さく、高い最適 pH、最適温度、熱安定性など異なる性質を示し、また、6GT 間のアミノ酸配列の相同性も低いなどの知見を得た。

さらに申請者は、M6 株の培養液上清から CMM 生成に関与する酵素を精製し、諸性質を決定するとともに、CMM の生成メカニズムを解明した。本酵素は、重合度 3 以上の α -1,4 グルカンにエキソ型に作用して、マルトース単位で分子間および分子内 α -1,6 転移反応を触媒することにより CMM を生成する新規糖転移酵素であることを明らかにし、6- α -マルトシルトランスフェラーゼ (6MT) と命名した。6GT と IMT の 2 種類の糖転移酵素によって生成するシクロアルタナンとは異なり、CMM は 1 種類の糖転移酵素によって生成することが示された。また、6MT のアミノ酸配列中には、 α -アミラーゼファミリーに共通して存在する 4 つの保存領域および触媒残基と推定される 3 つの酸性アミノ酸残基が認められ、6MT は α -アミラーゼファミリーに属する酵素であることが示唆された。

以上の研究成果は、デンプンの高度利用、糖質関連酵素化学ならびに環状四糖の今後の応用研究に大きく貢献するものであり、申請者は博士 (農学) の学位を受けるのに十分資格ありと判定した。