

審査の結果の要旨

氏名 松山佳織

植物細胞壁は、細胞の力学的強度を担保するだけでなく、細胞分裂や細胞接着、細胞分化・増殖の制御、シグナル伝達、生体防御、水理機能など、植物にとって非常に重要な役割を担う構造体である。また、地上におけるバイオマスの大部分が植物細胞壁であるため、植物細胞壁の主成分である多糖類に作用する酵素の機能を詳細に明らかにすることは、植物の成長メカニズムの解明やバイオマスの有効活用につながることを期待される。ガラクトンは植物細胞壁に含まれる多糖の一種で、成長中の一次細胞壁に存在するペクチンの側鎖や、プロテオグリカンの一つであるアラビノガラクトタンパク質 (AGP) の糖鎖領域に存在し、細胞壁強度の維持やシグナル伝達に関与する。しかしながら、その糖鎖構造や分解酵素に関する研究は多くなく、いまだ不明な点が多い。

そこで本博士論文において第一章の序論では、植物細胞壁の構成成分とガラクトンの機能、ガラクトン分解酵素に関する既往の研究に関する知見を紹介し、研究の背景に関して説明した。

第二章では、トマト果実由来糖加水分解酵素 (GH) ファミリー35 β -ガラクトシダーゼ (TBG4) の酵素基質複合体の X 線結晶構造解析、アンサンブルリファインメント、ドッキングシミュレーションを行った。X 線結晶構造解析で決定した複合体構造の触媒部位に着目すると、サブサイト-1 位ではガラクトース残基と酵素との相互作用が保存されていた。サブサイト+1 位は触媒ポケット入口の大きく開いた部分に位置しており、基質の種類により酵素との相互作用様式に差異がみられた。また、アンサンブルリファインメントでは、反応性の高い基質が結合している時ほど触媒部位のゆらぎが小さく、反応性が低い基質ほど触媒部位のゆらぎが大きいことが示された。さらに、ドッキングシミュレーションの結果から反応性の高い基質ほど触媒部位に生産的に結合しやすく、反応性の低い基質は非生産的に結合しやすいことが示された。また、TBG4 は長いガラクトンを認識して加水分解する可能性も示された。これらの結果から TBG4 の基質認識機構を解明するとともに、TBG4 は触媒ポケット入口が広く開いた構造をとるために様々な結合様式のガラクトオリゴ糖を認識できるが、その反応性の

高さは触媒部位への基質の結合のしやすさおよび安定性と関係があると結論づけた。

第三章では、担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* 由来 GH43 エキソ- β -1,3-ガラクトナーゼ (*Pc1,3Gal43A*) の酵素基質複合体の X 線結晶構造解析とアンサンブルリファインメントを行なった。構造解析の結果、*Pc1,3Gal43A* は GH43 サブファミリー24 (GH43_sub24) に典型的にみられる 5 枚羽根プロペラ構造の触媒ドメインと、炭水化物結合モジュール (CBM) ファミリー35 にみられる β -ゼリーロール構造の糖質結合ドメインから構成されているとわかった。また、*Pc1,3Gal43A* の構造的特徴が β -1,6-ガラクトタン側鎖のバイパスを可能にしていることを明らかにするとともに、アンサンブルリファインメントの結果から、基質認識に強く関与するアミノ酸残基を特定した。一方で、本酵素の CBM は他の多糖類に対して結合性を示す構造既知の CBM35 とは異なるメカニズムで基質を認識していることを明らかにした。

第四章の総括では、植物が多数の GH35 β -ガラクトシダーゼを産生し、他のファミリーに分類されるエンド型の酵素は産生しないのに対して、微生物では様々なファミリーにまたがる酵素遺伝子を有し、さらに菌種によって保有する酵素の種類や遺伝子数に違いがみられることから、各生物の生存環境の違いに起因する特徴であることを議論した。植物と担子菌のエキソ型ガラクトタン分解酵素の基質認識機構の相違点が、今後ガラクタンの構造解析やガラクトタン分解に関する研究の足掛かりになることを論じた。

以上、本論文は、ガラクトタンを非還元末端から分解するエキソ型ガラクトタン分解酵素に着目し、植物と担子菌がそれぞれ産生する酵素の酵素基質複合体の立体構造解析を行い、各酵素の機能と構造の相関や生物種によるガラクトタン分解機構の差異を明らかにしており、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。