

学位論文審査の結果の要旨

氏名	藤光 洋志
審査委員	主査 有馬 二朗 (印) 副査 澤 嘉弘 (印) 副査 小崎 紳一 (印) 副査 一柳 剛 (印) 副査 藪田 行哲 (印)
題目	微生物における第4級アンモニウム化合物分解酵素および分解経路に関する研究 (Studies on microbial degradation enzymes and pathway of quaternary ammonium compounds)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>藤光洋志氏から提出された表題の学位論文について、平成28年7月29日に実施した口頭発表も踏まえて、5名の審査委員で審査を行った。</p> <p>コリンやグリシンベタインなどに代表される第4級アンモニウム化合物は、動植物などの高等生物では、神経伝達や適合溶質として働くものが多く、生体内物質として非常に重要な役割を持つ。同時に、これらの物質は、自然界では微生物により分解・代謝されていると考えられている。特にコリンの分解については、いくつかの分解経路の報告があり、糸状菌ではコリン酸化酵素、原核生物では <i>Arthrobacter</i> 属細菌以外（本菌はコリン酸化酵素を利用）は脱水素酵素を利用した分解系が知られている。しかし、第4級アンモニウム化合物分解経路に係る全容は明らかになっていない部分が多く、ほかの第4級アンモニウム化合物分解経路について、興味もたれる。このような背景の下、藤光洋志氏は、コリンアナログである4-N-トリメチルアミノ-1-ブタノール (TMA-ブタノール) の真核生物による分解系、及びγ-ブチロベタインの <i>Agrobacterium</i> 属細菌による分解系の解明に焦点を当て、それらの解明を目指し、主に2つの研究を実施し、以下のような優れた成果を挙げた。</p> <p>1. <i>Fusarium</i> 由来 TMA-ブタノール脱水素酵素の解析： 様々な担子菌や糸状菌を対象に TMA-ブタノールを分解できる菌株をスクリーニングした結果、<i>Fusarium merismoide</i> var. <i>acetilereum</i> が選抜された。様々な検討の結果、本菌は真核生物であるにもかかわらず、本菌が生産する酵素は原核生物と同じ NAD⁺依存型 TMA-ブタノール脱水素酵素を生産していることが明らかとなった。本酵素は、これまでに知られている <i>Pseudomonas</i> 由来の酵素と比較して、基質特異性が広く、認識できる炭素鎖の長さは C₄ から C₈ の中鎖のアルコールで、トリメチルアミノアルコールだけでなく、ジメチルアミノアルコール、アミノアルコール、また直鎖の1級アルキルアルコールも認識する酵素であった。動物アセチルコリンエステラーゼなど、一般的に知られる第4級アンモニウムを認識する酵素は、基質特異性が狭いことが知られるが、本酵素は一般的なアルコール脱水素酵素と同様、広い基質特異性を持つことが分かった。更には、本酵素反応の生成物である4-N-トリメチルアミノブチルアルデヒドの脱水素酵素活性も <i>Fusarium merismoide</i> var. <i>acetilereum</i> から検出された。しかし、さらなる下流の酵素活性については検出されなかった。</p>	

2. *Agrobacterium* 属細菌由来 γ -ブチロベタイン CoA 合成酵素のクローニングと解析：

4-N-トリメチルアミノブチルアルデヒド脱水素酵素の生成物は、 γ -ブチロベタインである。また本化合物は、L-カルニチンの工業生産の材料として用いられており、CoA が関与した分解経路を通じ、L-カルニチンが生産されていると考えられていた。しかし、CoA 関与の酵素活性はこれまでに報告はなく、その証明は、TMA ブタノール分解経路全容の解明にもつながる。そこで、CoA 関与の酵素についてスクリーニングを行なったところ、 γ -ブチロベタインを唯一の炭素・窒素源として土壌分離菌である *Agrobacterium* sp. 525A 株を培養したときに、 γ -ブチロベタイン CoA 合成酵素が生産されることを見出した。本酵素遺伝子のクローニングと組換え酵素の生産に成功したため、基質特異性をはじめとする様々な性質検討を行なった。その結果、本酵素は比較的基質特異性が狭く、ATP の消費で AMP ではなく ADP を産生するユニークな性質を持つ酵素であることが明らかとなった。また、本酵素遺伝子の周辺には本酵素以外にも 4 つの ORF が存在し、本酵素遺伝子を含めて 5 つの遺伝子からなるオペロンを形成していた。また、それぞれのタンパク質の機能から、 γ -ブチロベタインは、 γ -ブチロベタイン CoA に変換された後、クロトノベタイン CoA、L-カルニチル CoA、3-デヒドロカルニチル CoA、を経てグリシンベタインとなることが予測された。

以上、本学位論文は、微生物による第 4 級アンモニウム化合物分解経路の解明に向け、コリンアナログである 4-N-トリメチルアミノ-1-ブタノール (TMA ブタノール) の真核生物による分解系、及び γ -ブチロベタインの *Agrobacterium* 属細菌による分解系の解明に焦点を当てた研究を遂行し、その分解経路の全容を紐解く重要な知見について詳細に述べられている。また得られたデータは新奇で獨創性に富むものであり、酵素学分野での研究の発展に大きく貢献することは間違いなく、学位論文として高く評価できると判断された。