

(様式7)

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	岡本 貴樹
審査委員	委員長 永野 真吾 印 委員 大城 隆 印 委員 木瀬 直樹 印 委員 _____ 印 委員 _____ 印
論文題目	新規な物質生産プロセスを可能にする膜内在性酵素の構造生物学的研究
審査結果の要旨	<p>酵素は、極めて高い基質特異性と反応特異性を示すことから、様々な有用物質生産の触媒として工業的な物質生産プロセスに用いられている。このような酵素利用においては、生化学・酵素学的研究に基づく詳細な酵素機能の解析が必要不可欠であり、加えて立体構造情報に基づく部位特異的変異導入による酵素機能の改変が新たな生産プロセスの構築につながるが、現時点でこのような解析や改変により工業利用が実現されたものは水溶性酵素が主であり、精製酵素の生化学的取り扱いが困難なため、立体構造決定がボトルネックとなっている膜内在性酵素の利用は極めて限定的であった。岡本氏は、この点に着目し、工業的な応用が期待されている2種の膜内在性酵素について以下の通り構造生物学的な研究を行なった。</p> <p>1) 様々な鎖長の直鎖アルカンの末端を水酸化する膜内在性酵素 <b>AlkB</b> に対して、基質結合ポケットの長さを制限すると期待される変異を導入することで、水酸化可能な基質鎖長が短縮され、基質選択性を高めた改変型酵素を作製した。また、分子量が小さくクライオ電子顕微鏡単粒子解析(クライオEM)では構造決定が非常に困難な膜タンパク質 <b>AlkB</b> を、対称性が高く構造決定が容易な膜タンパク質と融合させる、あるいはナノディスクと呼ばれる円盤状脂質二重膜に再構成することでクライオEMによる高分解能立体構造決定を可能とする精製試料を調製することに成功した。</p> <p>2) アミノ酸ホモポリマーである <math>\epsilon</math>-ポリ-L-リジンの合成と細胞外への分泌を同時に行う、複数のドメインを持つ膜内在性酵素 <b>Pls</b> の触媒機構の全容解明を目指し、その構造生物学的研究を行った。ポリマー合成の初発反応を担うアデニル化ドメインのX線結晶構造解析から、この酵素が様々なアミノ酸の中からL-リジンのみを特異的にアデニル化するメカニズムの立体構造基盤を解明した。さらに、極めて不安定な全長酵素の高純度精製法を確立し、クライオEMによる単粒子像撮影に成功した。</p> <p>以上のように本論文は、膜内在性酵素の基質選択性の改変やその発現機構を解明する上で重要な構造生物学的知見を多く見出し、さらに今後の膜内在性酵素の構造生物学研究、特にクライオEMを用いた研究の発展に大きく寄与する技術基盤を構築した。これらの研究成果は未だ解明されていない点が多く残る膜内在性酵素の詳細な触媒機構の解明や、その情報を活用した工業的新規物質生産プロセスの構築に寄与するところが少なくない。よって、博士(工学)を授与するに相応しいと判定する。</p>