


## 学位論文の要旨

フリガナ氏名	しいば ひろひで 椎葉 大偉	
専攻 入学年度	宮崎大学大学院農学工学総合研究科博士後期課程 平成 22 年度 ( 4 月 ) 入学	生物機能応用科学 専攻
学位論文 題目	<i>Trichoderma reesei</i> 由来セロビオヒドロラーゼ糖結合性モジュールのドッキングシミュレーション研究	
<p>【論文の要旨】 (和文の場合1,200字程度、英文の場合800語程度)</p> <p>糸状菌<i>Trichoderma reesei</i>は結晶性セルロースを基質とする2種の高活性セルラーゼ (Cel7A, Cel6A) を生産する。両者はセルロース分解の方向性に違いがあり、Cel7Aはセルロース分子鎖を還元末端側から非還元末端側に向かってセロビオース単位で加水分解するのに対し、Cel6Aはその逆方向の分解機構が示唆されている。両者とも基質認識に特化した糖質結合モジュール(CBM)を有している。CBMの基質認識面にある3つの芳香族アミノ酸が平面を形成し、セルロース結晶の疎水面を選択的に認識する。両者の野生型CBMと比較して、部位特異的変異導入による変異型CBMはセルロース結晶に対する親和性を大きく変化することが知られている。本論文では、これらの知見を背景に、CBMのセルロース結晶面への吸着挙動や基質特異性についての体系的な理解を目的とした分子モデリングおよび分子シミュレーション (分子動力学"MD") 研究を実施した。</p> <p>野生型Cel7A CBMとセルロース結晶基質間の相互作用解析より、Cel7A CBMが最も安定な親和性を示すセルロース結晶面、およびセルロース結晶に対するCel7A CBMの安定配向が電子顕微鏡観察や酵素学的研究によって示されたCel7A CBMの選択的吸着やCel7Aの加水分解方向と一致する結果が得られた。さらに、CBMがセルロース結晶疎水性表面に特定の吸着点を持つ可能性も示唆された。吸着点と推定されるCBMのセルロースに対する結合エネルギー極小領域が、セルロース分子鎖軸に沿ってセロビオース単位に相当する約10Å間隔で存在することから、CBMは加水分解の進行と連動してセロビオース単位で不連続に移動するものと推定された。また、エネルギー極小点は、疎水性面幅をセルロース分子鎖1本まで減少させても確認され、加水分解初期段階からCBMは特定の吸着点に結合するものと推定された。また、Cel7A CBMの結合面アミノ酸に部位得的変異を導入した変異CBMとセルロース結晶基質間の相互作用解析の結果、酵素学的研究によって示された変異CBMと野生型CBMの吸着能の傾向を定性的に再現した。さらに、Cel6A CBMに対する同様な相互作用解析の結果から、セルロースとの相互作用がCel7A CBMより大きい傾向が示され、これもCBM吸着実験の結果と一致した。一方、Cel6A CBMのセルロース結晶面に対する安定配向はCel7A CBMと反対方向となり、この点についても実際のCel6Aに対して推定されたプロセッシング方向と一致した。</p> <p>以上の研究成果から、CBMのセルロース結晶認識に関わる重要アミノ酸を特定するとともに、それらが、CBMのセルラーゼの基質認識において吸着能だけでなく方向特異性に関与する可能性が示され、これまで酵素学・生物物理学的な実験によって得られたCBMの基質認識特性に対して、熱力学的評価と分子レベルでの理解を与える成果が得られた。</p>		

- (注1) 論文博士の場合は、「専攻、入学年度」の欄には審査を受ける専攻を記入すること。  
(注2) フォントは和文の場合、10.5ポイントの明朝系、英文の場合12ポイントのtimes系とする。  
(注3) 学位論文題目が外国語の場合は日本語を併記すること。  
(注4) 和文又は英文とする。