【237】

氏名	森　光一
授与した学位	博　士
専攻分野の名称	工　学
学位授与番号	博甲第１７６２号
学位授与の日付	平成１０年３月２５日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 （学位規則第４条第１項該当）
学位論文題目	Studies on the Reactivating Factor for Adenosylcobalamin-Dependent Diol Dehydratase アデノシルコバラミン関与ジオールデヒドラターゼの再活性化因子に関する研究
論文審査委員	教授　虎谷　哲夫　教授　金澤　浩　教授　山田　秀徳 教授　尾坂　明義　教授　斎藤　清機

学位論文内容の要旨

アデノシルコバラミン（AdoCbl）関与のジオールデヒドラターゼはグリセロールを基質とした場合、速やかに機構依存的不活性化を受ける。この不活性化は、酵素に結合した補酵素が修飾され、しかも酵素から解離しないために起こる。*Klebsiella oxytoca*では、菌体をトルエン処理し低分子に対する透過障壁を無くした系（*in situ*）において、ATP, Mg^{2+}および遊離AdoCblの存在下で本酵素の再活性化が確認されている。しかし、*in vitro*ではこのような再活性化が検出できないため、その機構は長らく不明であった。本研究は、この再活性化機構の分子レベルでの解明を目的として行った。

*K. oxytoca*のジオールデヒドラターゼ遺伝子の3'-隣接領域に存在する2つの遺伝子を酵素遺伝子とともに大腸菌に共発現させると、不活性化されたホロ酵素が*in situ*で再活性化されたことから、これらの遺伝子を再活性化因子の遺伝子と同定した。これらの遺伝子産物を精製したところ、両者は複合体として存在することが分かった。不活性化されたホロ酵素にこの複合体を加えて*in vitro*での再活性化を試みたところ、*in situ*の場合と同様の再活性化が認められた。したがって、この複合体が再活性化因子であることが確認された。精製再活性化因子は低いATPアーゼ活性を示した。酵素と再活性化因子との相互作用を調べた結果、ADP存在下では複合体の形成が促進され、ATP存在下では解離が促進された。また、この相互作用は酵素へのコバラミンの結合、および結合しているコバラミンの種類によっても変化した。これらの結果から、酵素と再活性化因子が複合体を形成し、ATPの加水分解に伴う再活性化因子の構造変化に共役して、修飾された補酵素が酵素から解離し、遊離のAdoCblと交換することが、再活性化の機構であると結論された。

論文審査結果の要旨

アデノシルコバラミン（AdoCbl；B_{12}補酵素）関与の酵素はラジカル機構で触媒するため、一般に不活性化を受け易い。この場合、不活性化された酵素を再活性化する系が生体に備わっているかどうか興味深い。B_{12}酵素の1つであるジオールデヒドラターゼはグリセロールを基質とした場合、速やかに機構依存的不活性化を受ける。この不活性化は、酵素に結合した補酵素が修飾され、しかも酵素から解離しないために起こる。*Klebsiella oxytoca*では、菌体をトルエン処理し低分子に対する透過障壁をなくした系（*in situ*）において、ATP, Mg^{2+}および遊離AdoCblの存在下で本酵素の再活性化が確認されている。しかし、*in vitro*ではこのような再活性化が検出できず、その機構は長らく不明であった。本研究は、この再活性化機構の分子レベルでの解明を目的として行われたものである。

*K. oxytoca*のジオールデヒドラターゼ遺伝子とその3'-隣接領域に存在する2つの遺伝子を大腸菌に共発現させると、不活性化されたホロ酵素が*in situ*で再活性化されたことから、これらの遺伝子を再活性化因子の遺伝子と同定した。これらの遺伝子産物は複合体として精製された。不活性化されたホロ酵素にこの複合体を加えると、*in situ*の場合と同様の再活性化が認められた。したがって、この複合体が再活性化因子であることが*in vitro*で初めて確認された。精製再活性化因子は低いATPアーゼ活性を示した。ADP存在下では酵素と再活性化因子との複合体の形成が促進され、ATP存在下では解離が促進された。この相互作用は酵素へのコバラミンの結合、および結合しているコバラミンの種類によっても変化した。これらの結果から、酵素と再活性化因子が複合体を形成し、ATPの加水分解に伴う再活性化因子の構造変化に共役して、修飾された補酵素が酵素から解離し、遊離のAdoCblと交換するという再活性化機構が強く示唆された。

以上のように本研究では、ジオールデヒドラターゼ再活性化因子の分子的実体の発見とその作用機作に関して重要かつ独創的な新知見が得られており、学術上資するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位に値するものと認める。