

## 審査の結果の要旨

氏名 シュミット カタリーナ カリン イングリッド

セルロース系バイオマスは再生可能な非可食性資源であり、古くから燃料、構造材、紙などに広く利用されてきた。セルロース系バイオマスはリグニン、ヘミセルロース、セルロースから構成されている。中でも、セルロースはグルコースを基本単位とするポリマーであるため、近年、セルロース分解によるグルコース生産の期待が高まっている。強酸及び高温での反応を必要とする化学的なセルロース分解はバイオマスが本来有する持続可能性を大きく失わせる。一方、自然界では、セルロースはセルロース分解酵素により効率良くグルコースへと分解されるため、持続的な炭素循環が実現している。したがって、セルロース分解酵素を利用したセルロース分解は持続可能な燃料・化成品生産に大きく貢献するものと考えられている。セルロースは大きく分けて結晶領域、非結晶領域、還元末端、非還元末端の4つ部位に分けられ、天然においてはそれぞれの部位に適したセルロース分解酵素が協奏的に作用することによって、高効率なセルロース分解が行われている。しかし、既往の酵素利用は単一酵素の機能に注目し、その機能を最大限に引き出すことを目的に発展してきたため、複数の酵素機能を相乗的に利用する方法は未だ確立されていない。本論文は、複数のセルロース分解酵素の複合化による高効率なセルロース分解技術の開発に関する研究であり、全五章から構成されている。

第一章は序論であり、セルロースの構造、セルロース分解酵素によるセルロース分解機構、人工的なセルロース分解酵素複合体の構築などに関する既往の研究・知見について概観し、本研究の背景と意義を述べ、本研究の目的と構成を示している。

第二章では、*Clostridium thermocellum* 由来エンドグルカナーゼ Cel9 及び CelD、エキソグルカナーゼ CbhA、*Termobifida fusca* 由来エキソグルカナーゼ Cel48A の触媒ドメインの発現系を構築し、それらのセルロース分解活性の評価を行っている。さらに、これらの酵素の触媒ドメインを単純に混合しただけではセルロース分解において相乗効果が得られないことを明らかにしている。

第三章では、ヘテロ三量体タンパク質である古細菌 *S. solfataricus* 由来の

核内増殖抗原 PCNA のサブユニットとの連結により、第二章で評価したセルロース分解酵素触媒ドメインの人工的な複合体形成を行っている。エンドグルカナーゼ同士の組み合わせである Cel9 と Cel1D の触媒ドメインを複合体形成させた場合、相加効果は見られたものの、相乗効果は見られなかった。一方、エンドグルカナーゼとエキソグルカナーゼの組み合わせである Cel9 と Cel48A、Cel9 と CbhA の触媒ドメインを複合体形成させた場合、相乗効果が見られることを明らかにしている。さらに、セルロース結合モジュール (CBM) との複合体形成がセルロース分解活性に与える影響についても評価している。極めて強く相互作用する PCNA のサブユニット PCNA1 と PCNA2 を利用して Cel9、Cel1D、CbhA の触媒ドメインを CBM と複合体形成させると、セルロースとの相互作用が強まるために、そのセルロース分解速度が向上した。また、CBM との複合体において、安定な PCNA1-PCNA2 二量体に連結したセルロース分解酵素触媒ドメインが、この二量体と弱く相互作用する PCNA3 に連結したセルロース表面上の CBM と結合・解離を繰り返せるようにした場合、加えた CBM の量に依存してセルロース分解速度が向上することを見出している。これはセルロース分解酵素触媒ドメイン・CBM 複合体が基質上を滑りながら分解していくのではなく、基質に結合している CBM に対してセルロース分解酵素触媒ドメインが結合してセルロースを分解した後、別の CBM と結合して新たな場所でセルロースを分解するという「ホッピング」機構によるものであると考察している。このようなホッピング機構による酵素反応は自然界には見られず、極めて興味深い発見である。このような機構に基づいて効率的なセルロース分解活性を示すセルロース分解酵素・CBM 複合体を人工的に構築した例は無く、極めて独創的な研究成果である。最後に安定な PCNA1-PCNA2 二量体に CbhA の触媒ドメインと CBM をそれぞれ連結し、PCNA3 に Cel9 の触媒ドメインを連結した複合体は、CBM を含まない複合体の相乗効果と比較してさらに高い相乗効果を示すことを明らかにしている。

第四章では、本論文の総括を述べている。

第五章では、今後の展望を述べている。

以上、本論文では、PCNA のヘテロ三量体化能を利用して、セルロース分解酵素触媒ドメインとセルロース結合モジュールの複合体を形成させ、高効率なセルロース分解を行う技術を開発したものである。既往の、人工的に酵素複合体を構築し利用する研究は、より安定な複合体を形成させることに主眼をおいたものであり、本研究のように結合・解離を繰り返すようなダイナミックな酵素複合体の開発例は無い。これらの研究成果はサステイナブルなセルロース系バイオマスの効率的な分解技術の開発に資するところ大であり、ケミカルバイオエンジニアリングの発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められる。