

(学位第 8 号様式)

No. 1

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	佐々木 優紀 1010
審査委員	主査 鹿児島大学 准教授 藤田 清貴
	副査 鹿児島大学 教授 北原 兼文
	副査 琉球大学 教授 金子 哲
	副査 佐賀大学 教授 後藤 正利
	副査 鹿児島大学 准教授 塩崎 一弘
審査協力者	印
題 目	<p>ビフィズス菌が有するアラビノガラクトサン-プロテイン分解酵素の機能解析および代謝機構に関する研究 (Studies on the glycosidases and the assimilative mechanisms of arabinogalactan-protein on bifidobacteria)</p>
<p>腸内常在細菌の一つであるビフィズス菌は多様な糖質加水分解酵素を用いて、宿主が摂取した食物繊維を利用している。離乳に伴い、構成するビフィズス菌種が変化することが報告されているものの、成人の腸管内で見られるビフィズス菌と食物繊維との関連性は菌叢と糖鎖構造の複雑さを理由に不明な点が多い。本研究では、高等植物の細胞壁に広く存在する糖タンパク質であるアラビノガラクトサン-プロテイン (AGP) に着目し、関連する分解酵素とビフィズス菌増殖機構の解明を行った。</p> <p>アラビアガム AGP は、複雑な糖鎖構造を有しており、これまでに、<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> (<i>B. longum</i>) の増殖効果が報告されているものの、増殖機構は不明であった。そこで、はじめに 12 菌株で資化性試験と比較ゲノム解析を行い、代謝関連候補遺伝子の探索を行った。その結果、<i>B. longum</i> JCM7052 を含む資化性菌のみに保存される遺伝子クラスターを発見した。本遺伝子クラスター上の糖質分解酵素のクローニングならびに酵素学的性状の解析を行ったところ、アラビア</p>	

ガム AGP の側鎖末端に存在する α -D-Galp-(1 \rightarrow 3)-L-Ara (GA) と β -L-Arap-(1 \rightarrow 3)-L-Ara (AA) の二糖を遊離する GH39 3-O- α -D-galactosyl- α -L-arabinofuranosidase (GAfase) を初めて見出した。さらに GA 分解に対して高い基質特異性を示す菌体内 GH36 α -D-galactosidase の機能を明らかにし、*B. longum* のアラビアガム AGP 分解機構を解明した。

次に、GAfase 処理により上述の二糖を除去したアラビアガム AGP に対して、更なる分解を行う α -L-arabinofuranosidase (BlArafE) を見出した。BlArafE は GH43 サブファミリー 22 (GH43_22) と GH43_34 の二つの触媒ドメインを同一タンパク質内に持つマルチドメイン酵素であった。各触媒ドメインの基質特異性解析により、GH43_22 と GH43_34 はそれぞれ α 1,3-L-Araf と α 1,4-L-Araf に作用し、アラビアガム側鎖に存在する L-arabinose を逐次分解することを明らかにした。また、*B. longum* JCM7052 の培養後の限界分解物として、AA と α -L-Rhap-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpA-(1 \rightarrow 6)- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)-D-Gal (S4) のオリゴ糖が培地中に蓄積されることを見出した。一方、*B. longum* と同じ腸内環境に生息する *B. adolescentis* 由来の GH36 β -L-arabinopyranosidase のクローニングならびに酵素学的性状の解析を行ったところ、AA 分解に対して高い基質特異性を示すこと、さらに、S4 が一部の *Bacteroides* 属細菌によって利用されることを見出した。

以上のように本研究では、*B. longum* のアラビアガム AGP 分解代謝機構に関わる新規糖質分解酵素の発見とその機能解析に成功するとともに、関連酵素の機能解析結果から、アラビアガム AGP の *B. longum* における資化性の仕組みの完全解明に成功した。また、*B. longum* の AGP のアラビアガム AGP が腸内環境に共存する微生物の協同作用によって利用される共生関係の存在を明らかにした。これらの成果は、ヒトが摂取する難消化性糖質の腸内細菌による分解代謝の仕組みに関する新たな知見を提供するものである。よって、本研究は、博士（農学）の学位論文として十分に価値のあるものと判定した。