

2021 年 1 月 15 日

論文審査要旨

化学応用学専攻 主査 小山文隆
副査 今村保忠
副査 南雲紳史
副査 澤村直哉

化学応用学専攻 博士後期課程 3 年 田畑絵理氏より申請のあった学位請求論文「ほ乳類，鳥類の酸性キチナーゼの酵素機能と食性に関する研究」に対し，2021 年 1 月 6 日に，主査 小山文隆，副査 今村保忠，南雲紳史，澤村直哉（早稲田大学）出席のもと，公開発表会を開催した。田畑氏より，口頭の発表があり，その後質疑を行った。

キチンは，*N*-アセチル-*D*-グルコサミン (GlcNAc) が β -1, 4 結合した直鎖状の多糖で，甲殻類，昆虫，線形動物，真菌類の構成成分で，地球上で二番目に豊富に存在するバイオマスである。これまで，昆虫や真菌類のようなキチン含有生物は，新規家畜飼料源として提案されてきた。しかし，キチンは長らく動物の体内では分解されない食物繊維として見なされてきたので，キチンあるいはキチン含有生物は家畜飼料としてあまり用いられてこなかった。

本学位論文での研究対象は，ほ乳類と鳥類の酸性キチナーゼ (Acidic Chitinase, Chia) である。Chia は，マウスの胃で過剰発現していることが報告されている。Chia は，その至適が pH 2.0 であることから，食物中のキチンを分解する消化酵素として機能する可能性が示唆されていた。しかし，家畜を含めた他の動物における Chia の生理学的な役割は不明であった。

本研究は，家畜動物を含めた幅広い動物種の Chia の解析により，昆虫の家畜飼料利用のための科学的知見を得ることを目的に開始された。

本学位論文は 6 章から構成されている。第 1 章は序論である。第 2 章では，ほ乳類，鳥類における Chia の遺伝子発現と酵素機能の解析が述べられている。すなわち，ニワトリ，ブタ，コモンマーモセットなどの雑食・食虫性動物の胃で，Chia mRNA が多量に発現し，その翻訳産物である Chia が，消化器系条件下で，消化器系のプロテアーゼに耐性を持ち，ミールワーム幼虫の殻やショウジョウバエの翅などのキチンを分解できることが示されている。他方，ウシやイヌの草食性，肉食性動物では，Chia の発現量およびキチン分解活性が，上記の雑食・食虫性動物と比べて低いことが明らかにされた。このように，動物の食性，具体的にはキチンを含む食餌を食べるかどうかの選択が，Chia の発現量・活性と相関することが見出されている。

第 3 章では、第 2 章で明らかにされた肉食性動物での Chia の不活性化メカニズムの解明が行われている。活性の高いマウスの Chia と、活性の低いイヌの Chia の間でキメラ体が作製され、さらに変異体タンパク質の解析により、イヌ Chia の不活性化の原因が、Phe214Leu および Ala216Gly の置換であることが示されている。このアミノ酸置換が、イヌと同じ肉食性動物で保存されているのかどうかをさらに検討するため、イヌが属する食肉目動物 41 種の Chia の塩基配列が解析された。その結果、このアミノ酸置換はイヌ科に特有であることが示された。さらに、イヌ科を除く多くの食肉目動物の Chia が偽遺伝子化していることも明らかにされた。他方、昆虫を食餌とするスカンクとミーアキャットでは高いキチン分解活性が認められた。これらのことから、肉食性動物がキチンを含まない食餌に適応したことで、Chia の構造と酵素活性に大きな変化が生じたことが明らかにされた。

第 4 章では、Chia の応用利用が試みられている。これまで、尿素が酵素を変性させることを利用して、キチンカラムと尿素を用いた Chia の精製が行われていた。この章では、まず、尿素の代わりに酢酸を用いた Chia の精製法が検討されている。複数の緩衝液、有機酸を検討した結果、酢酸とキチンが競合することで、穏やかで効率的に Chia 酵素を調製することが可能となった。さらに、脱アセチル化されたキチン（キトサン）に対する Chia の分解活性についても検討された。その結果、Chia がキチンのみならず、キトサンを分解し、生物医学的な分野で注目を集めるキトオリゴ糖を生成できることが明らかにされた。

第 5 章は、総合考察で、本研究の意義について述べられている。田畑氏は、本研究で明らかにした家畜動物の Chia のキチン分解能に基づき、昆虫を飼料として積極的に与えるべき動物、控えるべき動物を提案している。また、キチン分解能が低い動物に対しては、キチンの消化性の向上を目的に、活性型 Chia を飼料に添加あるいは補充的に用いることが提案されている。

第 6 章は結論である。本学位論文の研究で、以下の 3 点が明らかにされた。まず、動物の食性が、Chia の遺伝子発現レベルと酵素活性と相関すること、次に、肉食性動物が非昆虫食に適応した結果、Chia が不活性化または偽遺伝子化へと分子進化していたこと、最後に、キチンカラムと酢酸を用いた Chia 精製のメカニズムを明らかにし、その Chia を利用してキトオリゴ糖を生産できること、である。これらの知見は、昆虫の飼料化促進、Chia の応用利用にとって、重要な基礎的データとなる。

以上のことから、本論文は博士（工学）の学位請求論文として充分価値があり、合格と判断できる。

以上