

2022 年 1 月 11 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 松野研司
副査 澤村直哉

化学応用学専攻 博士後期課程 3 年 上原麻衣子氏より申請のあった学位請求論文「カニクイザル酸性キチナーゼの酵素特性に関する研究：キトオリゴ糖生産への応用」に対し、2022 年 1 月 6 日に、主査 小山文隆、副査 今村保忠、松野研司、澤村直哉（早稲田大学）出席のもと、Webinar で公開発表会を開催した。上原氏より、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。しかし、キチンは分子構造が強固であるため、分解しにくく、利用があまり進んでいない。

キトサンは、キチンの脱アセチル化体である。キチンやキトサンの分解産物であるキトオリゴ糖は、抗腫瘍効果、抗炎症、抗菌などの生理活性を持っていることから注目されている。

本学位論文での研究対象は、カニクイザルの酸性キチナーゼ (Acidic Chitinase, CHIA) である。CHIA は、マウスなどの雑食動物の胃で過剰発現し、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。

カニクイザルは、その名前の通り、カニを食べる。カニの甲羅の主成分はキチンであるので、カニクイザルは、強力なキチン分解酵素を有する可能性が考えられた。本研究では、カニクイザル CHIA の遺伝子発現解析と酵素特性の解析、そしてキトオリゴ糖生産への応用の検討が行われた。

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、カニクイザルにおけるキチナーゼ遺伝子発現解析について述べられている。CHIA mRNA はカニクイザルの胃で特異的に発現しており、CHIA が胃における主要な転写物であることが明らかになった。その発現レベルは、マウスおよびヒトにおけるキチナーゼの発現と比較しても高いことから、カニクイザルが胃で CHIA を多量に発現していることが明らかになった。さらに、カニクイザ

ルの胃の抽出液で強いキチナーゼ活性を検出した。この結果は、mRNA レベルでの知見と一致していた。これらのことから、CHIA がカニクイザルの胃で高いレベルで発現し、強力なキチナーゼ活性をもつ可能性が示唆された。

第3章では、カニクイザル CHIA の性質について述べられている。低分子人工発色基質の分解を行ったところ、カニクイザル CHIA は、マウス Chia に比べ、幅広い pH および温度条件下で非常に強い活性を有し、pH 安定性および熱耐性を有する酵素であることが示された。また、この酵素には高分子キチンに対しても上述のようなキチン分解特性がみられた。これらのことから、カニクイザル CHIA は様々な条件下で強いキチン分解活性を有する酵素であることが明らかにされた。

第4章では、キトオリゴ糖生産などのカニクイザル CHIA の応用が検討された。まず、カニクイザル CHIA は、37℃ (霊長類の体温) よりも 50℃ 条件下で多量のキチン分解産物を生成した。次に、カニクイザル CHIA はキトサンを分解し、効率よくキトオリゴ糖を生成することを明らかにした。これらのことは、カニクイザル CHIA が、抗腫瘍効果、抗炎症、抗菌などの生理活性を有するキトオリゴ糖の生産に有望な酵素であることを示された。

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。カニクイザル CHIA は頑強な酵素であることから、強酸性～酸性で、高温条件下におけるキトサンの分解で、効率良くキトオリゴ糖の生成できることを示した。上原氏は、本研究で明らかにしたカニクイザル CHIA の有用な酵素特性を活かし、生理活性を有するキトオリゴ糖の生産に応用することを提案している。

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、カニをはじめとするキチン含有生物を食べるカニクイザルの胃で CHIA が大量に発現していること、次に、カニクイザル CHIA は様々な条件下で強い活性を有する頑強な酵素であること、最後に、高温条件下におけるカニクイザル CHIA によるキチンおよびキトサン分解はキトオリゴ糖生成の効率をあげること、が示された。これらの知見は、未利用生物資源であるキチンの有効利用の一つであるキトオリゴ糖の生産における、カニクイザル 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