

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 11885 号
------	---------------

氏 名 吉本 将悟

論文題目

ナノファイバータンパク質AtaAの表層提示機構と分子特性に関する研究

(Study on the secretion mechanism and molecular properties of the nanofiber protein AtaA)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	堀 克敏
委員	名古屋大学	教授	本多 裕之
委員	名古屋大学	教授	本間 道夫
委員	名古屋大学	教授	渡邊 信久

論文審査の結果の要旨

吉本将悟君提出の論文「ナノファイバータンパク質AtaAの表層提示機構と分子特性に関する研究」は、高接着性アシネトバクテリウム属細菌Tol 5の接着因子であるナノファイバータンパク質AtaAの表層提示に関わる新規遺伝子の役割と、分子としてのAtaAの接着特性についてまとめた論文である。五つの章から構成されており、各章の概要は以下の通りである。

第1章では、本論文の研究背景と研究目的について述べられている。生体触媒とその固定化技術について背景と問題点をまとめた上で、高接着性細菌アシネトバクテリウム属細菌Tol 5とその接着因子であるナノファイバータンパク質AtaAについての詳細と本論文の目的について述べている。

第2章では、ゲノム上で*ataA*遺伝子の下流に存在し264残基からなるタンパク質をコードする*tpgA*遺伝子に着目し、*tpgA*がAtaAの表層提示に関わることを様々な観点から検証している。まず、*tpgA*と*ataA*がオペロンを形成していることをRT-PCRによって示している。続いてTpgAが外膜でAtaAと共局在することを細胞分画とシヨ糖密度勾配遠心法により示している。また、独自の手法によりペプチドグリカン結合タンパク質を分離し、その中にTpgAが含まれることを示している。さらに、Tol 5の*tpgA*欠損株を作製しその細胞接着性とAtaAの表層提示量を解析することにより、TpgAがAtaAの外膜通過を促進することを明らかにしている。これらの結果は、AtaAの表層提示機構の一端を示す重要な知見である。

第3章では、AtaAの分離精製法の確立とAtaAの接着にはその高次構造が重要であることについて述べている。AtaAの根本部分に特異性の高いプロテアーゼ認識配列を組み込みプロテアーゼ感受性にし、プロテアーゼ感受性AtaAを表層提示した細胞をそのままプロテアーゼで処理することによりAtaAのパスセンジャードメインを細胞表層から分離し、その後、硫酸沈殿とシヨ糖密度勾配遠心法によりAtaAのパスセンジャードメインを精製することに成功している。精製されたAtaAは分子として高い接着性を示すことを水晶発振子マイクロバランスを用いた測定により明らかにしている。また、熱処理によるAtaAの変性に伴って接着性が低下することを示している。この結果から、AtaAの接着にはタンパク質の高次構造が重要であることが示唆されている。また、精製したAtaAが酸塩基、熱処理に対して耐性を示すことを明らかにしている。これら分子特性解析の結果は、AtaAの接着機構を解明する上で重要な知見であるとともに、AtaAを工学的に応用するうえでも有用な知見である。

第4章では、AtaAの塩濃度依存的な接着性を発見し、その接着特性を利用した菌体の接着制御について述べられている。まず、精製したAtaAで見られた塩濃度依存的な接着特性がAtaAを発現した菌体でもみられることを明らかにしている。その塩濃度依存的な接着特性に基づいて、純水洗浄による菌体の剥離と塩を含む水溶液への再懸濁により複数回の菌体着脱を達成し、菌体の接着性を制御できることを示している。さらに、微生物触媒の固定化における担体の再利用への応用例を示している。これらの結果はAtaAの分子特性を明らかにするとともに、AtaAによる微生物固定化技術を効率化するうえでも有用な知見である。

第5章では、本研究の結論を与えている。

以上のように、本論文では遺伝子工学、タンパク質工学、顕微鏡技術などを駆使してナノファイバータンパク質AtaAの表層提示機構の一端とAtaAの分子特性を明らかにしている。本研究成果は、微生物の接着性ナノファイバータンパク質の機能発現機構の解明と、それに基づく微生物固定化技術の革新を実現するために重要であり、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者である吉本将悟君は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格があると判断した。