

Title	ナイロンオリゴマー分解性プラスミド p0AD2 の解析
Author(s)	加藤, 晃
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3094152">https://doi.org/10.11501/3094152</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	加藤 晃
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 11346 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科醗酵工学専攻
学位論文名	ナイロンオリゴマー分解性プラスミド pOAD 2 の解析
論文審査委員	(主査) 教授 卜部 格 教授 今中 忠行 教授 山田 靖宙 教授 高野 光男 教授 大嶋 泰治 教授 新名 惇彦 教授 吉田 敏臣 教授 二井 将光

#### 論文内容の要旨

本論文は、非天然型化合物であるナイロンオリゴマーの分解に関与する酵素を支配する遺伝子、*nylB* と *nylC*、の相補鎖にも、通常では考えられないが遺伝子として機能しうる領域が存在することに着目し、これら遺伝子領域を担う pOAD 2 プラスミドの構造的特徴を知り、新しい遺伝子、酵素が発現する可能性について検討した研究成果をまとめたものである。

緒論では、本研究の背景を述べるとともに、本論文の目的とその概要について述べている。

第1章では、ナイロンオリゴマーの分解に関与する酵素を支配する pOAD 2 プラスミドの全塩基配列の決定を行い、以後の解析の足掛りとしている。

第2章では、pOAD 2 プラスミドが持つ特徴の1つである2つの繰り返し配列(RS-IIとRS-I)について解析を行なっている。2ヶ所に存在するRS-II領域については、それぞれがコードする類似酵素間の関係を明らかにしている。5ヶ所に点在するRS-I領域については、これらが完全に同一の配列であり、また、他の細菌由来の挿入配列と全く同じ配列であることを示し、この挿入配列の分類、また、他のDNA領域での分布を調べ、pOAD 2 プラスミドに対する理解を深めている。

第3章では、pOAD 2 上に存在する、遺伝子として機能しうる領域の解析を行なっている。これらと既存のデータベースに登録されている遺伝子との進化的関係を調べ、pOAD 2 プラスミドの機能領域の分類を行なっている。pOAD 2 上に存在する読み取り枠には、その相補鎖にも遺伝子として機能しうる領域がある場合が多く、このような事象はナイロンオリゴマー分解性遺伝子 *nylB*、*nylC* の場合に限らず、このプラスミドの1つの特徴である。また、第2章で述べた挿入配列が下流や上流に位置する読み取り枠を活性化できることを確認し、この挿入配列が新規遺伝子の発生に関与する可能性を示している。新しい活性を持った酵素の取得は工学的にも重要であり、今回の知見により微生物の進化工学的利用の一段階を示している。

総括では、本研究で得られた主な成果を要約している。

## 論文審査の結果の要旨

生物進化の過程においては、新しい遺伝子が生まれることにより、新しい能力が獲得されている。このような新しい遺伝子が発生する可能性を人為的に高めることができれば、有用微生物の育種に大いに貢献すると考えられる。本論文は、非天然型化合物であるナイロンオリゴマーの分解という、新しく獲得された能力に関与する酵素群を支配する pOAD 2 プラスミドの全塩基配列を決定し、その構造的特徴を明らかにすることにより、新しい遺伝子が生まれ、新しい酵素が現れるための要件を考察している。その主な成果を要約すると以下の通りである。

- (1) pOAD 2 プラスミドの全塩基配列を明らかにしている。
- (2) pOAD 2 上の 5 ケ所に点在する RS-I 領域の塩基配列が完全に同一であり、また、他の挿入配列 IS6100 と全く同じ配列であることを明らかにし、IS6100 の伝播が比較的近年に起こったことを示している。
- (3) pOAD 2 上にコードされている 2 つの類似酵素 EII, EII' は共に 329 アミノ酸残基からなり、EII が EII' の 100 倍の活性を持つが、EII' のアミノ酸配列の中の 2 ケ所を EII 型に変えることにより、EII' の活性が 100 倍上昇しうることを明らかにしている。
- (4) pOAD 2 上の終止コドンが存在しない領域 (NSF) と既存のデータベースに登録されている遺伝子との相同性解析を行い、本プラスミドの機能領域を推定している。さらに、本プラスミド上に多数存在する相同性を持たない NSF が、新しい遺伝子になる可能性について論じている。

以上のように、本論文は酵素進化に関する重要な情報を持つ pOAD 2 プラスミドの構造的特徴を明らかにしたもので、微生物育種、酵素進化学の発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。