Osaka University Knowledge Archive

Title	Pseudomonas sp. 109 株由来の大環状ラクトン合成能を有するリパーゼ
Author(s)	井原, 史雄
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3087924
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【7】

氏　　名	井　原　史　雄（いはら　ふみお）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学位記番号	第　10236　号
学位授与年月日	平成4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	*Pseudomonas* sp. 109 株由来の大環状ラクトン合成能を有するリパーゼ
論文審査委員	(主査) 教　授　山田　靖宙 (副査) 教　授　大島　泰治　　教　授　今中　忠行　　教　授　菅　　健一 教　授　高野　光男　　教　授　吉田　敏臣　　教　授　二井　将光

論文内容の要旨

大環状ラクトン合成活性，すなわち有機溶媒中で分子内エステル交換反応を触媒し，大環状ラクトンと呼ばれる環状の化合物を合成する活性はすべてのリパーゼに見られる性質ではなく，ブタ膵臓由来，および *Pseudomonas* 属由来の未精製リパーゼ標品にのみ見いだされた特徴であり，そのリパーゼの本態は明らかにされていなかった。本論文は大環状ラクトン合成能を有するリパーゼの本態を明らかにし，本リパーゼの反応機構および構造的特徴を解明するための一環となる研究をまとめたものであり，緒論，総括を含む7章からなる。

第1章では，リパーゼ，あるいは他の酵素を有機合成反応における触媒として用いた場合の有用性を述べ，本研究の目的およびその概要を述べている。

第2章では，*Pseudomonas* 属由来，大環状ラクトン合成能を有するリパーゼの精製過程を述べ，本リパーゼの本態を明らかにしている。

第3章では，大環状ラクトン合成能を有するリパーゼのラクトン合成活性における基質特異性から，モノマーラクトンの合成率が基質の炭素鎖長に依存することを述べ，本リパーゼのエステラーゼ活性における基質特異性を考慮し，本リパーゼの活性中心と基質との関係について考察している。

第4章では，*Pseudomonas* sp. 109 株から，大環状ラクトン合成能を有するリパーゼをコードする遺伝子（*lipL*）を大腸菌にクローン化し，その塩基配列から明らかにされた本リパーゼの1次構造について述べ，本リパーゼは *Pseudomonas* 属のリパーゼに特有の配列を有していることを指摘している。

第5章では，リパーゼ遺伝子（*lipL*）のすぐ下流に位置し，本リパーゼの活性発現に必須の遺伝子（*limL*）について述べ，その遺伝子のコードする蛋白質の1次構造を明らかにしている。また *LimL* 蛋

白質がリパーゼを活性化する機構についての考察を述べている。

第6章では，*Pseudomonas* sp. 109株は大環状ラクトン合成能を有するリパーゼ（*lipL*）の他に少なくとも3種類のリパーゼ（*lipA*, *lipB*, *lipC*）を保持し，リパーゼの多形性を示すことを述べている。

第7章では，以上の研究の成果を要約し，本論文の総括としている。

論文審査の結果の要旨

酵素の有機合成反応への応用は近年盛んであり，光学活性物質の合成等，化学反応の弱点を補う面から注目を浴びている。特にリパーゼは非水溶媒中でのエステル交換反応に汎用され，その構造と活性発現機構は酵素工学分野での重要な研究課題である。

本論文は，大環状ラクトン合成能を有する *Pseudomonas* sp. 由来のリパーゼの精製，反応性，その遺伝子の構造，同菌株が生産するその他のリパーゼ3種の遺伝子の構造を明らかにしたものであり，主な成果を要約すると次の通りである。

(1) *Pseudomonas* sp. 109株の生産する大環状ラクトン合成能を有するリパーゼの精製法を確立し，分子量，N－末端の一次構造その他の性質を明らかにした。

(2) (1)で精製したリパーゼを用い，種々の鎖長の基質に対するエステラーゼ活性およびラクトン合成能を調べ，ラクトン合成反応における鎖長依存性の機構に関する知見を得た。

(3) 大環状ラクトン合成能を持つリパーゼの遺伝子（*lipL*）を大腸菌にクローン化し，その塩基配列を決定してリパーゼの一次構造を明らかにした。また既知リパーゼの一次構造との比較検討をした。

(4) 遺伝子 *lipL* の下流に新たな遺伝子 *limL* を見いだし，この遺伝子が大腸菌での *limL* の活性発現に必要であることを明らかにした。

(5) *Pseudomonas sp. 109* 株より *lipL* 以外の3種類のリパーゼ遺伝子 *lipA*, *lipB*, *lipC* を取得し，本菌株はリパーゼの多形性発現株であることを明らかにした。これらの遺伝子の全て塩基配列を決定し，大環状ラクトン合成能を有するリパーゼと比較し，その構造を特徴について知見を得た。また，*lipA*, *lipB* 遺伝子は大腸菌内で発現させ，そのタンパク質を精製してリパーゼ活性を証明した。

以上の結果は新しいリパーゼ活性の解明，開発に役立つ多くの知見を含んでおり，酵素工学，応用微生物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の価値があるものと認める。