

Title	Bacillus pumilus IP0のキシラン分解系の遺伝子と酵素に関する研究
Author(s)	森山, 英明
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35357">https://hdl.handle.net/11094/35357</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 【5】

氏名・(本籍)	もり 森	やま 山	ひで 英	あき 明
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	7711	号	
学位授与の日付	昭和62年3月26日			
学位授与の要件	工学研究科醸酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	<u>Bacillus pumilus</u> I P Oのキシラン分解系の遺伝子と酵素に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 弘輔    教授 合葉 修一    教授 田口 久治 教授 大嶋 泰治    教授 山田 靖宙    教授 高野 光男 教授 菅 健一    教授 勝部 幸輝    教授 二井 將光			

## 論文内容の要旨

分子生物学の最近の進歩により遺伝子の塩基配列および蛋白質のアミノ酸一次配列が容易に決定できる。本研究は農林産資源の有効利用に重要なキシラン分解系酵素を遺伝子レベルと酵素蛋白質のレベルで研究したものである。

第一章ではヘミセルロースとくにキシランの分解と有効利用について紹介し、Bacillus pumilus I P Oの生産するキシラナーゼと $\beta$ -キシロシダーゼに焦点を当てることを述べている。

第二章ではすでにクローン化されている両遺伝子の発現をノーザン・ハイブリダイゼーション法により検討し、両酵素のmRNAが独立に転写されていることを明らかにしている。 $\beta$ -キシロシダーゼ遺伝子の塩基配列を決定し、本酵素が539アミノ酸残基からなり、転写開始に関与する塩基配列は他に見られない独特のものであることを明らかにしている。決定された $\beta$ -キシロシダーゼのアミノ酸配列をリゾチームやキシラナーゼの配列と比較してアスパラギン酸とグルタミン酸の対による酸触媒に共通な一次配列を発見している。

第三章ではキシラナーゼ構造と機能の相関を調べるためX線結晶構造解析を2.9Åの分解能で行っている。結晶化はポリエチレングリコールを用いている。その結果、本酵素は40×30×35Åの楕円形で大小2つのドメインからなり、ドメイン間に溝をもつ構造であるが、 $\alpha$ -ヘリックス構造がなく $\beta$ -シート構造のみからなるユニークな構造である。また触媒残基と推定されるアスパラギン酸とグルタミン酸は溝の中に対をなして存在することを明らかにしている。

第四章では前章の結果をもとに触媒基と推定されたアスパラギン酸(125)を部位特異的遺伝変異によりグリシンに変化した結果、およびアスパラギン酸(125)とグルタミン酸(151)の修飾結果から、

この2つの残基が活性中心に含まれると判断している。

第五章では得られた結果を総括している。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は農林産資源の利用に重要なキシラン分解系酵素（キシラナーゼと $\beta$ -キシロシダーゼ）の遺伝子と酵素の立体構造を研究したもので次のような重要な結果を含んでいる。

- (1) *Bacillus pumilus* I P Oの $\beta$ -キシロシダーゼ遺伝子の塩基配列を決定した結果、539のアミノ酸残基からなるサブユニットをもつ蛋白質であると決定し、その配列をリゾチーム、キシラナーゼやキシロズ・イソメラーゼのアミノ酸配列と比較し共通な部分配列を見出しその機能を推定している。
- (2)  $\beta$ -キシロシダーゼとキシラナーゼ遺伝子の転写領域を決定し、別々にmRNAに転写されていることを明確にしている。またそれらのプロモーター領域の塩基配列が既知のものとは異なることを示している。
- (3) キシラナーゼのX線結晶酵素を解析を行い2.9Å分解能での解析に成功している。
- (4) 立体構造解析の結果から本酵素は二次構造として $\alpha$ -ヘリックスをふくまず $\beta$ -シート構造のみを有する。三次構造では大小2つのドメインからなっており、ドメイン間に溝があり基質が結合する部位と推定される。このような構造は全く新しい蛋白質構造である。
- (5) キシラナーゼの活性中心と推定されるアスパラギン酸(125)とグルタミン酸(151)はこの溝の中心に對をなして存在している。
- (6) 上のアスパラギン酸(125)を部位特異的遺伝子変異によりグリシンに変換した結果活性は低下し、また、アスパラギン酸(125)とグルタミン酸(151)を特異的阻害剤で阻害した時の結果と一致する。以上の結果はキシラン分解系酵素遺伝子工学およびキシラナーゼの酵素化学に関して重要な多くの基礎的知見を与えており、蛋白質工学の発展に貢献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。