The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bacillus属細菌の蛋白質分泌に関する基礎的研究
Author(s)	姫野, 毅
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35362
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【4】

氏名・(本籍)	姫野　毅（ひめの　たけし）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第 7710 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	工学研究科醗酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	***Bacillus*属細菌の蛋白質分泌に関する基礎的研究**
論文審査委員	(主査) 教授 合葉 修一 教授 大嶋 泰治　教授 岡田 弘輔　教授 田口 久治

論文内容の要旨

本論文は，*Bacillus licheniformis* ATCC 9945A株のpenicillinase（PCase）構造遺伝子（*penP*）を主に用い，*Bacillus*属細菌の蛋白質分泌に関する基礎的知見を述べたもので，緒論，本論（3章）及び総括より成る。

緒論では生体における蛋白質分泌の基本概念とsignal配列を軸に数多く蓄積されつつある既往の知見を総合して，本研究の目的とその概要を述べている。

第1章では，*B. subtilis* MI112及び*B. licheniformis* ATCC 9945A MO15－1の形質転換株が生産する*penP*由来の菌体外PCaseをその塩基及びアミノ酸配列から比較している。すなわち，両株が生産する2種のPCase（exo－large及びexo－small型）のうち，exo－large型については両株ともそのN末端アミノ酸はSerであるが，exo－small型では*B. subtilis*の場合，Glu又はAsnであるのに対し*B. licheniformis*ではLysであることを確かめている。

第2章では，*penP*及び*B. stearothermophilus*のα－amylaseの構造遺伝子（*amyT*）更にヒト唾液腺のα－amylaseの遺伝子（*hsa*）を用い，夫々，分泌vectorとcartridgeの作製を経て構築した種々の融合遺伝子の*B. subtilis*内での発現様式を検討している。*B. subtilis*の蛋白質分泌におけるprocessing siteやsignal配列の意義を，これらの融合遺伝子発現実験を通じて，一層明確にしている。

第3章では，PCaseのrepressorの温度感受性変異（*penI*^{ts}）を単離し，これを基にして*pen* I遺伝子の同定と塩基配列の決定を行っている。*penP*及び*penI*のpromoter領域中，可能なoperator配列の検索を行っており，*penP* promoterの内部とその下流，及び*penI* promoterの下流に互いに相同性がある2回転対称配列を見出している。この配列は*penP*及び*penI*のoperatorとしてrepressor蛋

白質が認識し結合すると考えられるが，この事実は既往の解析すなわち，*penP* と *penI* とは同一のpromoterによる転写単位を構成するとした結果と一致しない。

総括では本研究の成果を要約し，*Bacillus*属細菌における制御可能な分泌vectorの構築及び分泌機構解明への応用について展望している。

論文の審査結果の要旨

本論文は，*Bacillus*属細菌が具備する，種々な酵素蛋白質の分泌能に関する基礎的知見を遺伝子組換え技術を駆使してまとめたものであり，その主な成果は次のごとくである。

(1) 同一の遺伝子（*penP*）を保有する*Bacillus*属細菌においてもその生産物が宿主菌特有のペプチダーゼで切断され，PCaseのアミノ酸組成が異なる場合があることを具体的に明らかにしている。

(2) *penP*，*amyT* 及び*hsa*を基礎として構築した分泌vectorとcartridgeの組合せによる融合遺伝子，すなわち，*penP* − *penP*，*penP* − *amyT*，*penP* −*hsa*，及び *amyT* − *penP*，*amyT* − *amyT*，更に *amyT* −*hsa*の発現量を*B. subtilis*を宿主として検討している。これらの一連の培養実験により *penP* − *penP*，*amyT* − *amyT* 及び *amyT* − *penP* の組合せのみが夫々野生株の分泌量に匹敵する事，更にsignal配列（vector）とcartridgeの種類（組合せ方）が酵素の分泌量に著しく影響する程度を明確にしている。

(3) *B. licheniformis*のPCase発現制御機構を解明する立場から，*penP* の発現が高湿で構成性となる2種のPCase repressorの温度感受性変異（$penI^{ts}$）を取得している。*penI* と $penI^{ts}$ の塩基配列を決定しているが，その決定の過程において *penI* に隣接し *penJ* と命名した新しい遺伝子を発見している。

(4) *penJ* は *penI* とオペロンを形成しており，分子量約*68,000*の蛋白質をコードする *penJ* が存在すると，従来不可能とされてきたCephalosporin Cによる*B. subtilis*内におけるPCase誘導が起こる事を見出している。

(5) *penI* 及び*penP* に共通するoperatorの存在を確認していることから *penI* の発現は自己制御下にあることを示唆している。

以上の成果は，*Bacillus*属細菌における蛋白質分泌に関し多くの基礎的知見を与えており醗酵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。