



Title	The Enzyme and Gene of the Thermostable Peroxidase from <i>Bacillus stearothermophilus</i>
Author(s)	Suvit, Loprasert
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37016">https://hdl.handle.net/11094/37016</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	スピット ロウプラセト SUVIT LOPRASERT
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	第 9153 号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 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	The Enzyme and Gene of the Thermostable Peroxidase from <i>Bacillus stearothermophilus</i> ( <i>Bacillus stearothermophilus</i> のペルオキシダーゼとその 遺伝子) (主査)
論文審査委員	教授 岡田 弘輔 教授 大嶋 泰治 教授 今中 忠行 教授 菅 健一 教授 山田 靖宙 教授 吉田 敏臣 教授 高野 光男 教授 二井 将光

### 論文内容の要旨

本論文は臨床試験やその他の生化学試験に多用されているペルオキシダーゼの耐熱性酵素を大量に生産することを目的として中等度耐熱性細菌 *Bacillus stearothermophilus* のペルオキシダーゼとその遺伝子について研究したものである。

第 1 章では従来のペルオキシダーゼに関する研究を概観し、研究の焦点を耐熱性ペルオキシダーゼに合わせる理由を述べている。

第 2 章では *B. stearothermophilus* の種々の株を検索し、そのうちの 1 株 IAM 11001 株がペルオキシダーゼを生産することを認め、その酵素を精製し、性質を調べている。本酵素はホモダイマー酵素であり、サブユニットの分子量は 87,000 である。本酵素は 406 nm にソーレバンドの強い吸光を示し、還元型の酵素は 434 と 558 nm に吸光がみられる。酵素から抽出したピリジンヘム色素のスペクトル、及びその酸化型-還元型の差スペクトルから本酵素はプロトヘム IX を含むと結論している。本酵素は 70 °C まで比較的安定で、30 °C では 1 ヶ月安定に保存できる。

第 3 章では *B. stearothermophilus* からペルオキシダーゼ遺伝子を大腸菌にクローン化し、その塩基配列を決定し、ペルオキシダーゼのアミノ酸配列を推定している。その結果ペルオキシダーゼは 731 アミノ酸残基からなっていることが分かった。アミノ酸配列は他のペルオキシダーゼやカタラーゼとは相同意がなく、大腸菌のペルオキシダーゼ-カタラーゼとのみ相同性を有している。

第 4 章では本ペルオキシダーゼを大量に大腸菌中で生産させるために、ペルオキシダーゼ遺伝子を高発現ベクターに連結し大腸菌内へ導入している。

その結果大腸菌中で可溶性蛋白質の約 30 % がペルオキシダーゼである。この酵素は加熱処理と 1 段階

のカラムクロマトグラフで純粋に精製できる。

### 論文の審査結果の要旨

ペルオキシダーゼは臨床試験、生化学試験とくに医療分析に多用されているが、現在は西洋ワサビより製造している。ペルオキシダーゼ需要の拡大と、より安定な酵素への志向から他の酵素源の探索が急がれている。本論文は中等度耐熱性細菌、*Bacillus stearothermophilus* のペルオキシダーゼとその遺伝子について研究したものであり、次のような重要な結果を含んでいる。

- 1) *B. stearothermophilus* IAM 1001 株のペルオキシダーゼを精製しその性質を調べた結果、本酵素は分子量 87,000 のサブユニット 2 分子からなるホモダイマーであり、ダイマー当たり 1 残基のプロトヘム IX を含むと結論している。
- 2) 本酵素は 70 °C まで安定で 30 °C で保存しても 1 ヶ月は安定である。この結果は十分実用化の可能性を示すものである。
- 3) *B. stearothermophilus* のペルキシオダーゼ遺伝子をクローン化し、その塩基配列から 731 アミノ酸残基からなることを推定している。他の起源のペルオキシダーゼとは相同性がなく、大腸菌のペルオキシダーゼーカタラーゼと相同性を示している。
- 4) クローン化したペルオキシダーゼ遺伝子を高発現ベクターに連結し大腸菌内へ導入した結果、大腸菌中の可溶性蛋白質の 30% がペルオキシダーゼ蛋白質であると云う高発現に成功している。
- 5) 大腸菌で生産させたペルオキシダーゼは活性を有し、加熱処理と一回のカラムクロマトグラフで純粋に精製できる。

以上のように本論文は酵素工学ならびに医療分析学の分野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。