

Title	Bacillus megaterium におけるグルコース脱水素酵素 アイソザイム遺伝子の発現制御
Author(s)	三田村, 俊秀
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/37915
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	三田村 俊 秀
博士の専攻分野の学位記番号	博士（工学） 第 10239 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	<i>Bacillus megaterium</i> におけるグルコース脱水素酵素アイソザイム 遺伝子の発現制御
論文審査委員	(主査) 教授 山田 靖宙 (副査) 教授 大嶋 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

本論文は、*Bacillus megaterium* におけるグルコース脱水素酵素 (GlcDH) アイソザイム遺伝子の生体内における発現制御に関する研究をまとめたものであり、諸論、3章からなる本論、総括より構成されている。

緒論では、本研究の背景と意義、およびグルコース脱水素酵素に関するこれまでの知見を要約し、本論文の構成について述べている。

第1章では、*Bacillus megaterium* I AM1030 から各手法による4種類の GlcDH アイソザイム遺伝子のクローニングと、その遺伝子構造について述べている。

第2章では、第1章で得られた4種の GlcDH アイソザイム遺伝子に加え、同族の *Bacillus megaterium* IWG 3 由来の GlcDH 遺伝子を含めた合計5種類のアイソザイム遺伝子を大腸菌で高発現させ、各アイソザイムを大腸菌から精製し、その諸性質の違いについて述べている。また、この精製酵素を用いて作製した各アイソザイムに対するポリクローナル抗体による、それぞれの免疫化学的性質の違いについても述べている。

第3章では、各アイソザイム遺伝子の発現を経時的にタンパク質レベルで解析した結果を述べている。その結果は孢子形成時特異的に発現が見られたもの、また栄養細胞増殖期特異的に、かつグルコースの添加によりその発現が見られたもの、さらには、今回の培養条件では発現が見られなかったものなどが、4種類のアイソザイム遺伝子の内でどれに当たるかを明らかにしている。

総括では、以上の結果を要約し GlcDH アイソザイムの発現制御機構と生体内での GlcDH の役割に関する今後の展望について述べている。

論文審査の結果の要旨

グルコース脱水素酵素 (GlcDH) はほとんどあらゆる生物に普遍的に存在している酵素であり、その生理的役割について、またその遺伝子の発現制御機構の解析には大いに興味を持たれている。*Bacillus megaterium* には複数の GlcDH アイソザイムが存在しており、これらの遺伝子の発現制御機構を明らかにすることは原核生物におけるアイソザイム遺伝子の発現制御機構の代表例になると考えられる。さらに GlcDH の生理的役割および分化の仕組みの解明の一端となりうる。

本論文では、*B. megaterium* I AM1030 の GlcDH アイソザイムの構造、酵素化学的性質、発現制御について得られた結果をまとめたものであり、その主な成果は次の通りである。

- (1) *B. megaterium* I AM1030 から 4 種類の GlcDH アイソザイム遺伝子をクローニングし、その塩基配列を決定した。
- (2) (1)の結果より得られたタンパク質の一次構造を比較し、各アイソザイム間の類縁関係を明らかにした。
- (3) アイソザイムの一つ GlcDH-I の遺伝子オペロンを *B. subtilis* のそれと比較し、その類似性を見いだした。
- (4) (1)で得られた 4 種類の GlcDH アイソザイム遺伝子と *B. megaterium* I WG 由来の GlcDH 遺伝子を実験室で高発現させ、各タンパク質を精製し、酵素学的性質と免疫化学的性質を調べ、その類縁関係を明らかにした。
- (5) 各アイソザイム遺伝子の発現を経時的にタンパク質レベルで解析し、その一つは孢子形成時特異的に発現し、その他の一つは栄養細胞増殖期特異的に、かつグルコースによりその発現が見られることを明らかにした。

以上の結果は、*B. megaterium* GlcDH 各アイソザイムの遺伝子、タンパク質、発現条件に関わる詳細な知見を明らかにしたものであり、微生物生理学、酵素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。