

Title	セファロスポリンアシラーゼに関する研究
Author(s)	荒森, 一郎
Citation	
Issue Date	
oa:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38562
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	荒 森 一 朗
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 0 8 0 9 号
学位授与年月日	平成 5 年 4 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	セファロsporin アシラーゼに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 今中 忠行 教授 山田 靖宙 教授 菅 健一 教授 吉田 敏臣

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、セファロsporin化合物の出発原料である7-アミノセファロsporin酸(7-ACA)の、より効率的な酵素的製造法を確立することを目的として、土壌試料より数珠の新規セファロsporinアシラーゼ生産菌を分離し、各々のアシラーゼ遺伝子をクローニングして構造的・機能的特徴を比較解析し、セファロsporin C生産菌にアシラーゼ遺伝子を導入して7-ACA生産菌を樹立した一連の研究成果をまとめたもので、序論、4章、および総括と展望から構成されている。

序論では、7-ACA製造法に関する研究状況と本論文の目的、意義ならびに構成について述べている。

第1章では、数多くのセファロsporinアシラーゼ生産菌を土壌試料より分離し、セファロsporinアシラーゼが基質特異性によって分類されることを示し、新規グルタリル7-ACAアシラーゼ生産菌 *Pseudomonas* sp. A14および *Bacillus laterosporus* J1、新規セファロsporin Cアシラーゼ生産菌 *Pseudomonas* sp. N176および V22を得てその特徴を示している。

第2章では、*Pseudomonas*由来のA14、N176およびV22アシラーゼ遺伝子をクローニングし塩基配列を解析して構造を明らかにし、既知のセファロsporinアシラーゼと比較してこれらの構造的特徴を論述している。

第3章では、*B. laterosporus* J1由来のセファロsporinアシラーゼ遺伝子をクローニングして塩基配列を解析し、J1アシラーゼが独特の構造を有することを明らかにしている。

第4章では、取得した新規セファロsporinアシラーゼの特徴をさらに明らかにするために、組換え体より精製したA14、J1およびN176アシラーゼを用いて分子量、サブユニット構造、至適pH、至適温度、反応速度定数、気質特異性、各種プロテアーゼ阻害剤の影響、生成物阻害、逆反応および熱安定性などについて比較検討し、これらのアシラーゼの事実上の有用性と留意すべき要素を明らかにしている。

第5章では、V22セファロsporin Cアシラーゼ遺伝子をセファロsporin C生産菌である *Acremonium chrysogenum* で発現させることにより、直接7-ACAを生産させ、遺伝子組換え技術を新たな醗酵生産菌の樹立にも利用できることを示している。

総括と展望では、上記の結果をとりまとめるとともに、本研究の展望について述べている。

論文審査の結果の要旨

本論文はセファロsporin化合物の出発原料である7-アミノセファロsporin酸(7-ACA)をより経済的に供給するために、セファロsporinアシラーゼによる効率的な酵素的製造法を確立することを目的として、新規セファロsporinアシラーゼを探索し、各々の遺伝子をクローニングして各アシラーゼの構造的・機能的特徴を比較解析し、アシラーゼ遺伝子のセファロsporin C生産菌への導入によって新たに7-ACA生産菌を樹立した一連の研究成果をまとめたもので、主要な成果はつぎのとおりである。

- (1) 土壌試料中よりセファロsporinアシラーゼ生産能を有する細菌を多数分離し、基質特異性の検討からセファロsporinアシラーゼが数種類のグループに分類されることを示し、新規グルタリル7-ACAアシラーゼ生産菌 *Pseudomonas* sp. A14 および *Bacillus laterosporus* J1, 新規セファロsporin Cアシラーゼ生産菌 *Pseudomonas* sp. N176およびV22を得てその性状を解析している。
- (2) *Pseudomonas* 由来のA14, N176およびV22アシラーゼ遺伝子をクローニングし塩基配列を解析して各アシラーゼの構造を明らかにし、これらが構造的に多様性を有しながらも、既知のアシラーゼと同様に単一の前駆体から生成される2種類のサブユニットからなること、および互いに相同性を有することを明らかにしている。
- (3) *B. laterosporus* J1由来のセファロsporinアシラーゼ遺伝子をクローニングして塩基配列を解析し、J1アシラーゼが既知のアシラーゼとは全く異なり単一のペプチドから構成されていることを明らかにしている。
- (4) 組換え体より精製したA14, J1およびN176アシラーゼを用いて分子量、サブユニット構造、至適pH、至適温度、反応速度定数、基質特異性、各種プロテアーゼ阻害剤の影響、生成物阻害、逆反応および熱安定性などについて比較検討している。これによって、取得した新規アシラーゼの実用上の有用性を示し、工業的利用の上で留意すべき要素を明らかにしている。
- (5) セファロsporin C生産菌である *Acremonium chrysogenum* にセファロsporin Cアシラーゼ遺伝子を導入し発現させることにより、直接7-ACAを生産させ、遺伝子組換え技術を酵素の大量調製のみならず、新たな醗酵生産菌の樹立にも利用できることを示している。

以上のように、本論文は土壌試料よりの新規セファロsporinアシラーゼ生産菌の探索と、遺伝子工学の手法を用いた新規セファロsporinアシラーゼの構造および機能の解明、7-ACAを直接生産する新たな醗酵生産菌の樹立を通じて、7-ACAの酵素的製造法の確立に貢献したもので、応用生物工学および醗酵生産技術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。