



| | |
|--------------|--|
| Title | 好熱菌 <i>Bacillus stearothermophilus</i> 由来のペプチジルプロリルシストランスイソメラーゼに関する研究 |
| Author(s) | 金, 東周 |
| Citation | 大阪大学, 1995, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/39160 |
| 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 >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

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 | 金 東 周 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (工 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 1 8 5 4 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 7 年 3 月 23 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 | 好熱菌 <i>Bacillus stearothermophilus</i> 由来のペプチジルプロリルシストランスイソメ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 大嶋 泰治 教 授 山田 靖宙 教 授 菅 健一 教 授 塩谷 捨明 教 授 吉田 敏臣 教 授 二井 将光 |

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、中等度好熱菌 *Bacillus stearothermophilus* SIC1 株由来の細胞質型ペプチジルプロリルシストランスイソメラーゼ (PPIase) を精製し、本酵素の諸特性を解析すると共に、その遺伝子クローニングと塩基配列の決定、蛋白質発現制御機構の遺伝子レベルでの解析を行ったものである。さらに大腸菌内で大量発現させた好熱菌由来 PPIase を精製後、*in vitro* における蛋白質折りたたみ促進効果についても検討している。

緒論では、本研究の目的と意義、およびその背景について述べるとともに、本研究の概略を示している。

第 1 章においては、好熱菌 *B. stearothermophilus* SIC1 株由来の PPIase に関する酵素活性測定法の最適化を行うと共に、本酵素を精製し、酵素学的諸性質の検討および N-末端アミノ酸配列の決定を行っている。その結果、本酵素が細胞質型の新規耐熱性 PPIase であることを明らかにしている。

第 2 章においては、前章で決定した PPIase の部分アミノ酸配列に基づきオリゴヌクレオチドプライマーを設計している。また、PCR 法により PPIase 遺伝子をクローニングし、その構造遺伝子領域の限定ならびに決定した塩基配列からタンパク質一次構造を推定している。その結果、構造遺伝子 (*ppiT*) は 501 塩基からなるオープンリーディングフレームにより構成され、167 アミノ酸残基、分子量 18,349 の蛋白質をコードしていることを明らかにしている。

第 3 章においては、クローン化した SIC1 株由来の PPIase 構造遺伝子を用いて、大腸菌を宿主として発現させ、さらにその蛋白質を精製後、より詳細に酵素学的諸性質を検討している。その結果、本 PPIase は 60℃ 30 分間の熱処理後も変性が認められない耐熱性酵素であり、基質として使用した変性 RNase TI 蛋白質の折りたたみ反応において明らかな促進効果を示すことを証明している。一方、免疫抑制剤であるサイクロスポリン A (CsA) や FK506 との関係についても考察している。

さらに総括では、本研究における成果及びさらに検討すべき問題点を示すと共に、今後の研究の展望について述べている。

論文審査の結果の要旨

中等度好熱菌 *Bacillus stearothermophilus* SICI 株由来の細胞質型ペプチジルプロリルシストランソイソメラーゼ (PPIase) を精製し、本酵素の諸特性を解析すると共に、その遺伝子クローニングと塩基配列の決定、蛋白質発現制御機構の遺伝子レベルでの解析を行ったものである。さらに大腸菌内で大量発現させた好熱菌由来 PPIase を精製後、*in vitro* における蛋白質折りたたみ促進効果について検討しており、主な結果は以下の通りである。

- (1) 好熱菌 *B. stearothermophilus* SICI 株由来の PPIase に関する酵素活性測定法の最適化を行うと共に、本酵素を精製し、酵素学的諸性質の検討およびN-末端アミノ酸配列の決定を行った結果、本酵素が細胞質型の新規耐熱性 PPIaseであることを明らかにしている。
- (2) PPIaseの部分アミノ酸配列に基づきオリゴヌクレオチドプライマーを設計し、PCR法により PPIase 遺伝子のクローニングを行い、塩基配列を決定した。その結果、構造遺伝子 (ppiT) は501塩基からなるオープンリーディングフレームにより構成され、167アミノ酸残基、分子量18,349の蛋白質をコードしていることを明らかにしている。
- (3) クローン化した SICI 株由来の PPIase 構造遺伝子を用いて、大腸菌を宿主として発現させ、さらにその蛋白質を精製後、より詳細に酵素学的諸性質を検討している。その結果、本 PPIase は60℃30分間の熱処理後も変性が認められない耐熱性酵素であり、基質として使用した変性 RNase TI 蛋白質の折りたたみ反応において明らかな促進効果を示すことを証明し、免疫抑制剤であるサイクロスポリンA (CsA) や FK506との関係についても考察している。

以上のように、本論文は新規 PPIase 蛋白質精製、遺伝子の塩基配列決定、さらに詳細に酵素学的諸性質の検討にいたるまで広範囲かつ意義深い結果を得ており、分子生物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。