

Title	Gluconobacter suboxydans におけるチトクロム c-553(C0)の機能
Author(s)	竹田, 裕彦
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39227">https://hdl.handle.net/11094/39227</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	竹 田 裕 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 工 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 5 8 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 10 月 31 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	<i>Gluconobacter suboxydans</i> におけるチトクロム c-553 (CO) の機能
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 大嶋 泰治 教授 卜部 格 教授 今中 忠行 教授 二井 将光

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、酢酸菌である *Gluconobacter suboxydans* におけるチトクロム c-553 (CO) の機能を解明し、それを構成要素とするシアンおよびアジド耐性電子伝達鎖の工業的酸化発酵における応用を目的として行った研究をまとめたもので、緒論および本論 4 章より構成されている。

緒論では、特に酸化発酵菌における電子伝達系について、これまでの基礎的あるいは工学的研究をまとめ、本研究の目的と意義について述べている。

第 1 章では、*G. suboxydans* IFO 12528 株よりチトクロム c-553 (CO) 遺伝子 DNA を単離し、その構造遺伝子を明らかにしている。またこれと重複または類似した遺伝子は、同菌株では検出されないことを示している。その塩基配列から推定される本チトクロム c のアミノ酸配列は 3 箇所へム c 結合共通配列を有し、*Acetobacter aceti* や *Acetobacter polyoxogenes* の膜結合性アルコール脱水素酵素 (ADH) のチトクロムサブユニット (第 2 サブユニット) のアミノ酸配列に高い相同性を示すことを見いだしている。

第 2 章では、チトクロム c-553 (CO) が膜結合性 ADH の第 2 サブユニットとして機能することを示している。まず酢酸菌のプラスミドを検索し、*G. suboxydans* IFO 3230 株より分離したプラスミドを基に大腸菌とのシャトルベクターを構築している。このシャトルベクターを用いて、工業的ソルボース発酵に使用されているが、膜結合性 ADH 第 2 サブユニットを持たず、膜画分の ADH やエタノール酸化酵素の活性を示さない *G. suboxydans* IFO 3254 株に、チトクロム c-553 (CO) 遺伝子 DNA を導入し、導入株は膜画分の ADH やエタノール酸化酵素の活性を示すことを明らかにしている。本章の結果と第 1 章の結果から、チトクロム c-553 (CO) は *G. suboxydans* IFO 12528 株の膜結合性 ADH の第 2 サブユニットであるとの結論を導いている。

第 3 章は、シアンおよびアジド耐性電子伝達鎖を持たない工業実用株 *G. suboxydans* IFO 3254 株に対して、チトクロム c-553 (CO) 遺伝子の導入株が、前述の形質変化の他に、その電子伝達鎖にアジド耐性が付与されることから、このチトクロム c-553 (CO) がシアンおよびアジド耐性電子伝達鎖の構成要素であることを示している。さらに、この形質転換株では、ADH の他にも種々の脱水素酵素や酸化酵素の活性が増加し、グルコン酸発酵およびソルボース

発酵での基質比消費速度および生産物比生産速度も増加することを見いだしている。以上の結果から、*G. suboxydans* IFO 12528 株由来のチトクロム *c*-553 (CO) 遺伝子を導入することにより、*G. suboxydans* 工業実用株の酸化発酵能を強化できる可能性を示している。

第4章では、本研究の成果を総括している。

## 論文審査の結果の要旨

酢酸菌による酸化発酵を改善するためには、同発酵で中心的に機能している細胞膜の電子伝達系を理解することは極めて重要である。本論文は、酢酸菌である *G. suboxydans* の膜画分に存在するチトクロム *c*-553 (CO) の電子伝達における機能を解明し、それを構成要素とするシアンおよびアジド耐性電子伝達鎖の工業的酸化発酵における応用を目的として行った研究をまとめたもので、その成果を要約すると以下の通りである。

- (1) *G. suboxydans* IFO 12528 株よりチトクロム *c*-553 (CO) 遺伝子 DNA を単離し、1434 塩基対からなるそのタンパク質コード部を明らかにし、これと重複または類似した遺伝子が同菌株では検出されないことを示している。
- (2) チトクロム *c*-553 (CO) 構造遺伝子から推定される 478 残基のアミノ酸配列は、3 箇所へム結合共通配列を有し、*A. acetii* や *A. polyoxogenes* の膜結合性アルコール脱水素酵素 (ADH) のチトクロムサブユニット (第2サブユニット) のアミノ酸配列に高い相同性を示すことを見いだしている。
- (3) 酢酸菌のプラスミドを検索し、*G. suboxydans* IFO 3130 株より分離したプラスミドを基に大腸菌と *G. suboxydans* のシャトルベクターを構築している。
- (4) 工業的ソルボース発酵に使用されているが、膜結合性 ADH 第2サブユニットを持たず膜画分に ADH やエタノール酸化酵素の活性のない *G. suboxydans* IFO 3254 株に、チトクロム *c*-553 (CO) 遺伝子 DNA を導入した菌株 *G. suboxydans* IFO 3254 (pGEAC1) は、膜画分に ADH やエタノール酸化酵素の活性を獲得することから、チトクロム *c*-553 (CO) は膜結合性 ADH の第2サブユニットとして機能することを明らかにしている。
- (5) シアンおよびアジド耐性電子伝達鎖を持たない工業実用株 *G. suboxydans* IFO 3254 株に対して *G. suboxydans* IFO 3254 (pGEAC1) 株はアジド耐性電子伝達鎖を獲得することから、チトクロム *c*-553 (CO) がシアンおよびアジド耐性電子伝達鎖の構成要素であることを明らかにしている。
- (6) *G. suboxydans* IFO 3254 (pGEAC1) 株では ADH 以外の種々の脱水素酵素や酸化酵素の活性が増加し、グルコン酸発酵およびソルボース発酵での基質比消費速度および生産物比生産速度も増加することを見いだしている。

以上のように、本論文は *G. suboxydans* IFO 12528 株由来のチトクロム *c*-553 (CO) が膜結合性 ADH の第2サブユニットであることおよびそれがシアンおよびアジド耐性電子伝達鎖の構成要素であることを明らかにし、このチトクロム *c*-553 (CO) 遺伝子を導入することにより、*G. suboxydans* 工業実用株の酸化発酵能を強化できる可能性を示している。これらは、応用生物工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。