

Title	Capability of a DNA Sequence to Produce an Enzyme
Author(s)	Prijambada, Irfan D.
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40207
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	プリヤムバダ Priyambada	イルファン Irfan D.
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)	
学 位 記 番 号	第 1 2 6 0 7 号	
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 4 月 30 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 醸酵工学専攻	
学 位 論 文 名	Capability of a DNA Sequence to Produce an Enzyme (任意の塩基配列をもつDNAから新規酵素を創出しうる可能性に 関する研究)	
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 卜 部 格 (副査) 教 授 関 達 治 教 授 今 中 忠 行 教 授 二 井 将 光 教 授 金 谷 茂 則 教 授 室 岡 義 勝 教 授 小 林 昭 雄 教 授 山 田 靖 宙 教 授 塩 谷 捨 明 教 授 吉 田 敏 臣 教 授 菅 健 一	

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、酵素進化の機構を実験的に解明し、新規酵素創出のための基礎的知見を得るために、細菌が新しい酵素活性を獲得する能力を有していることを実験的に明らかにするとともに、任意の塩基配列から成るDNAが水溶性のタンパク質をどの程度生成しうるものかを明らかにしたものである。

序論では、本研究の目的、意義、背景、および、本論文の概略について述べている。

第1章では、*Pseudomonas aeruginosa* PA01株を、本来資化できなかったナイロンオリゴマーを単一炭素および窒素源とした培地に順次適応させたところ、数カ月で新しい資化能力を獲得した菌株(PA05502株)を得ている。そして、PA05502株が、親株にはないナイロンオリゴマー分解酵素活性を持つことを明らかにしている。

第2章では、さらに一般的な知見を得るため、ランダムな塩基配列からなる遺伝子群を人工的に構築している。この遺伝子群は、長さの上で、420 bp, 798 bp, 1191 bpの3つのグループから成っている。これらの遺伝子群が大腸菌内で転写、翻訳され、各長さに相当するタンパク質が生産される確率を調べ、420 bp, 798 bp, 1191 bpの各遺伝子群で、それぞれ50%, 25%, 17%であることを示している。このことより、遺伝子の長さが長くなるほど、その発現効率が低下することを明らかにしている。

第3章では、前章で得られたランダムなアミノ酸配列をもつタンパク質群の溶解性を調べている。420 bpの遺伝子群から生産される140アミノ酸残基から成るランダムタンパク質群では、調べた25個のうち5個が溶解性であるが、他の長さの遺伝子群から生産される266アミノ酸残基および397アミノ酸残基から成るランダムタンパク質群では、調べた各25個全てが不溶性であることを明らかにしている。

第4章では、前章で得られた5種の水溶性タンパク質および5種の不溶性タンパク質の遺伝子の塩基配列を決定し、各タンパク質のアミノ酸配列を推定している。そして、その結果を解析し、タンパク質の疎水性の度合いが強いものほど不溶性となる傾向のあることを明らかにしている。

第5章では、本研究で得られた結果を総括し、任意の塩基配列から成るDNAから新しい酵素を創出しうる可能性について論じている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、優れた触媒である酵素を、天然に存在する酵素とは独立に、人為的に新たに創出するという酵素工学の中心的問題に迫るために、進化工学的立場からその基礎的知見を得ることを目的としたもので、主な成果を要約すると以下の通りである。

- (1) *Pseudomonas aeruginosa* PA01株が、本来資化できなかったナイロンオリゴマーを資化する能力を、適応的に獲得し得ることを実験的に明らかにしている。
- (2) 天然の酵素のもつ配列とは全く異なるアミノ酸配列をもつタンパク質を得るために、ランダムな塩基配列からなる遺伝子群を設計し、人工的に構築している。
- (3) これらの遺伝子群を大腸菌内で発現させ、遺伝子の長さが長くなるほどその発現効率が低下することを明らかにしている。
- (4) 大腸菌内で発現するランダムなアミノ酸配列をもつタンパク質群の溶解性を調べ、140アミノ酸残基から成るタンパク質群では、そのうちの約20%が水溶性であることを明らかにし、さらにアミノ酸残基数が増大すると溶解性が減少することを明らかにしている。
- (5) 5種の水溶性タンパク質および5種の不溶性タンパク質の遺伝子の塩基配列を決定し、各タンパク質のアミノ酸配列を推定している。
- (6) アミノ酸配列から得られる各タンパク質の物理化学的性質と溶解性との関係性を解析し、タンパク質の疎水性の度合いが強いものほど不溶性となる傾向のあることを明らかにしている。

以上のように、本論文は、細菌の中で新しい酵素活性が出現する可能性を示すとともに、任意のアミノ酸配列をもつタンパク質の中にもかなりの割合で水溶性のものが存在することを明らかにしており、これらのタンパク質をもとに、進化工学的手法で新規酵素を創出する可能性を示している。これらの成果は、酵素工学および進化工学分野に対して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。