

Title	Studies on key enzymes for ammonium assimilation in the hyperthermophilic archaeon <i>Pyrococcus</i> sp. strain KOD1
Author(s)	Boonsri, Jongsareejit
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40584
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	Boonsri Jongsareejit		
博士の専攻分野の名称	博士(工学)		
学位記番号	第 13877 号		
学位授与年月日	平成10年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻		
学位論文名	Studies on key enzymes for ammonium assimilation in the hyperthermophilic archaeon <i>Pyrococcus</i> sp. strain KOD 1 (超好熱菌 <i>Pyrococcus</i> sp. KOD 1 株のアンモニア同化系酵素に関する研究)		
論文審査委員	(主査) 教授 室岡 義勝		
	(副査)		
	教授 山田 靖宙	教授 小林 昭雄	教授 塩谷 捨明
	教授 関 達治	教授 金谷 茂則	教授 卜部 格
	教授 原島 俊	教授 菅 健一	教授 吉田 敏臣
	教授 二井 将光		

論文内容の要旨

超好熱菌 (Hyperthermophile) は、その生育環境の特殊性や系統解析から、原始生命体に最も近い生物の一つと考えられている。本研究ではアンモニア同化の中心的酵素であるグルタミン酸合成酵素 (GOGAT)、グルタミン合成酵素 (GS) 及びグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) に注目し、各遺伝子の特徴を明らかにするとともに酵素的性質を解析している。本論文は5章からなり、その内容は以下のとおりである。

第1章では研究対象となった超好熱菌 *Pyrococcus* sp. KOD 1 株の形態的、生理学的特徴を詳解するとともに、過去の研究で明らかにされた遺伝子構造の特殊性、酵素の興味深い反応特性を述べ、本研究を行なうに至った経緯を説明している。

第2章では KOD 1 株の GOGAT について遺伝子構造の特殊性、その酵素的性質について述べている。KOD 1 株の GOGAT 遺伝子 (*gltA*) は他の微生物由来の GOGAT の小サブユニットをコードするものしか存在しないが、大腸菌を宿主として発現した蛋白質は GOGAT としての酵素的性質を示している。

第3章では KOD 1 株の GS 遺伝子 (*glnA*) の取得、及び大腸菌を宿主にして発現した酵素を用いて GS の酵素的性質の検討を行なっている。系統解析を試み、GS 遺伝子は、細菌の酵素と同様、GSI のグループに属していることが示されている。大腸菌を宿主にして KOD 1 株の GS 遺伝子を発現し、組換え酵素を精製し、その性質を検討している。KOD 1 株の GS はアデニル化による調節は受けず、反応には ATP 以外に GTP も効率良く利用することが示されている。

第4章では GDH 遺伝子 (*gdh*) の特徴について調べ、生化学的性質についても論述している。系統解析から KOD 1 株の GDH は酵母や高等真核生物の GDH で構成されるファミリー II に属していることが示されている。KOD 1 株の細胞から GDH を精製し、その性質を調べ、反応がアンモニアからグルタミン酸合成の方向に偏っていること、また、酵素がグルタミンからグルタミン酸を合成する GOGAT 活性も有していることを明らかにしている。GDH の反応速度定数を *GltA* と比較したところ、*GltA* の方が高い GOGAT 活性を有することが示されている。3種の酵素のうち、GDH の細胞内含量が著しく高いことから、GDH がアンモニア同化の中心的役割を果たすと考えられている。

第5章では得られた知見を要約するとともに KOD 1 株の3種類の酵素が生体内で果たす役割を考察している。

論文審査の結果の要旨

超好熱菌 (Hyperthermophile) は、その生育環境の特殊性や系統解析から、原始生命体に最も近い生物の一つと考えられている。本研究では超好熱菌 *Pyrococcus* sp. KOD 1 株のアンモニア同化の中心的酵素であるグルタミン酸合成酵素 (GOGAT)、グルタミン合成酵素 (GS) 及びグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) に注目し、各遺伝子の特徴を明らかにするとともに酵素的性質を解析し、原始代謝を予想する興味深い知見を得ている。得られた結果を要約すると以下のとおりである。

- (1) KOD 1 株の GOGAT について遺伝子構造の特殊性、その酵素的性質について調べ、本株の GOGAT は他の微生物由来の GOGAT の小サブユニット部分しかないことを明らかにしている。
- (2) GS は遺伝子の系統解析から、細菌の酵素と同様、GSI のグループに属していることが示されている。ところが、アデニル化による調節は受けず、反応には ATP 以外に GTP も効率良く利用することが解明されている。
- (3) GDH は酵母や高等真核生物の GDH で構成されるファミリー II に属し、その反応はアンモニアからグルタミン酸合成の方向に偏っていることが明らかになっている。また、GDH の細胞含量は高く、反応速度定数を GS、GOGAT と比較し、この酵素がアンモニア同化の中心的役割を果たしていると考えられている。また、GDH にはグルタミンからグルタミン酸を合成する GOGAT 活性があることも示されている。

以上のように、本論文において超好熱菌のアンモニア同化系酵素の遺伝子構造の特徴が解明されているとともに、各遺伝子の進化系統における位置付けが明確にされた。また、調べられた各酵素の性質は超好熱菌のアンモニア同化機構を予想するうえで極めて重要な知見と判断される。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。