

Title	超好熱菌由来シクロデキストリン合成・分解酵素に関する研究
Author(s)	山本, 智子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/42118">http://hdl.handle.net/11094/42118</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	山本智子		
博士の専攻分野の名称	博士(工学)		
学位記番号	第15415号		
学位授与年月日	平成12年3月24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	超好熱菌由来シクロデキストリン合成・分解酵素に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授 福井 希一		
	(副査)		
	教授 室岡 義勝	教授 卜部 格	教授 小林 昭雄
	教授 塩谷 捨明	教授 関 達治	教授 二井 将光
	教授 原島 俊	教授 山田 靖宙	教授 菅 健一
	教授 吉田 敏臣	教授 金谷 茂則	教授 今中 忠行

#### 論文内容の要旨

本論文は、超好熱始原菌 *Thermococcus* sp. B1001由来シクロデキストリン合成酵素 (CGTase) 及び CGTase 遺伝子とクラスターを形成しているシクロデキストリン分解酵素 (CDase) に関する研究をまとめたものであり、緒言、本論4章、総括からなる。

緒言では、本研究の背景と目的、およびその意義について記述している。

第1章では、CGTase 活性を有する超好熱始原菌 *Thermococcus* sp. B1001の単離、CGTase の精製及びその諸性質を検討している。その結果、本酵素が、優れた耐熱性と $\alpha$ -シクロデキストリン (CD) を優先的に合成するといったユニークな性質を有していることを明らかにしている。

第2章では、CGTase 遺伝子のクローニング及び塩基配列の決定を行っている。決定された CGTase 遺伝子が、2217塩基で739アミノ酸をコードしていることを示した。さらに、部位特異的変異体を作製し、環化特性に影響を与えるアミノ酸残基を特定している。その結果、267番目の Tyr が環化特性に重要な役割を果たしているアミノ酸残基の一つであるという知見を得ている。

第3章では、*in vitro* での熱処理が組換え CGTase の構造、生化学的性質に与える影響について検討している。*In vitro* での熱処理により糖化活性の低下、CD 合成活性の上昇が認められる。さらに、円偏光二色性分析 (circular dichroism, CD) 及び熱容量 (Cp) 測定の結果より、熱処理により CGTase の構造変化が生じるという知見を得ている。

第4章では、CGTase 遺伝子のすぐ上流に位置する CDase 遺伝子を大腸菌で発現させ、組換え CDase の諸性質について検討している。さらに、下流領域に糖輸送に関するタンパク質のホモログが存在していることから、B1001株に CD 取り込み経路が存在していることを示唆している。

最後に、以上で得られた知見を総括し、CD 取り込み経路に関する研究の将来の展望について記述している。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、超好熱始原菌 *Thermococcus* sp. B1001由来シクロデキストリン合成酵素 (CGTase) 及び CGTase 遺伝

子とクラスターを形成しているシクロデキストリン分解酵素 (CDase) に関する研究をまとめたものであり、得られた主な成果を要約すると以下の通りである。

1. 超好熱始原菌 *Thermococcus* sp. B1001由来 CGTase を精製し、その諸性質を検討した結果、本酵素が高い耐熱性と  $\alpha$ -CD を優先的に合成するといった性質を有していることを明らかにしている。
2. CGTase 遺伝子のクローニング、塩基配列決定の結果、CGTase 遺伝子が2217塩基からなり739アミノ酸をコードしていることを示している。
3. 部位特異的変異体を作製し、267番目の Tyr が環化特性に重要な役割を果たしているアミノ酸残基の一つであることを明らかにしている。
4. 熱処理により組換え CGTase は構造変化を生じ、さらにこの変化が生化学的性質の変化を引き起こしていることを明らかにしている。
5. CGTase 上流に位置するシクロデキストリン分解酵素 (CDase) を精製し、諸性質を検討している。
6. さらに、CGTase 遺伝子の下流には糖輸送に関するタンパク質のホモログが存在していたことから CD 取り込み経路が存在していることを示唆している。

以上のように、本論文は CD の高温環境下における細胞生理学的意義の解明に寄与するものであり、本論文は博士論文として価値あるものと認める。