

Title	リボヌクレアーゼHの分子多様性に関する研究
Author(s)	大谷, 直人
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42405
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	おお だに なお ちと 大 谷 直 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 6 2 7 1 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科物質・生命工学専攻
学位論文名	リボヌクレアーゼHの分子多様性に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 金谷 茂則 (副査) 教授 宮田 幹二 教授 福住 俊一 教授 柳田 祥三 教授 横山 正明 教授 高井 義造 教授 梅野 正隆

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、リボヌクレアーゼH (RNase H) という生体内酵素の多様性の解析および生物界での分布について考察したものであり、以下に示すように、序論、本論5章、および総括から構成されている。

序論では、生物の分類およびRNase Hに関する研究の背景について触れ、本研究の目的を述べている。

第1章では、大腸菌由来のRNase H IIの発現系を改良することで従来の方法よりも大量に得ることを可能にし、その生化学的解析を行っている。これにより、RNase H活性を有しているのかでさえ疑わしかったRNase H IIが、実際にRNase H活性を有する酵素であり、その活性がMn²⁺依存性であることを示している。

第2章では、枯草菌から3つのRNase Hホモログを見出し、その諸特性の解析を行い、大腸菌由来酵素との比較を行っている。その結果、枯草菌では2つのRNase H IIホモログ (RNase H II、H III) が活性を有し、RNase H IIはMn²⁺依存性、RNase H IIIはMg²⁺依存性であることを示している。また、大腸菌由来の酵素との比較から、枯草菌RNase H IIは大腸菌RNase H IIと、枯草菌RNase H IIIは大腸菌RNase H Iと類似の機能を有すると推測している。

第3章では、耐冷菌SIB1株からRNase H I遺伝子をクローニングし、SIB1株RNase H Iの諸特性の解析を行っている。その結果、SIB1株RNase H Iは大腸菌RNase H Iよりも活性の至適温度が20℃低温側にシフトしており、しかも極端に不安定であることを明らかにした。さらに、変異酵素の解析により、その性質の違いには2箇所のアミノ酸置換が関与していることを示している。

第4章では、耐冷菌SIB1株からRNase H II遺伝子をクローニングし、その諸特性の解析を行い、SIB1株RNase H IIが高い温度では触媒効率が低下するという低温酵素の特徴を示すことを述べている。また、大腸菌、枯草菌、SIB1株のそれぞれのRNase Hの解析から、RNase Hという酵素が細胞内に複数存在する場合、それらはそれぞれ単独で進化するのではなく、互に関連して進化するのではないかと推測している。

第5章では、第1章から第4章までの解析やゲノム情報に基づき、RNase Hをタイプ1とタイプ2に分類することを提案し、それぞれの分子進化について考察している。また、タイプ1 RNase Hよりもタイプ2 RNase Hの方が生物界に普遍的に存在することを見出している。

総括では、本研究で得られた成果をまとめ、本論文の結論としている。また、今後の展望についても述べている。

論文審査の結果の要旨

RNase HはDNAの複製や修復、転写といった最も重要な生体機構に関与しているといわれる酵素である。しかし、生理機能など未だ明らかになっていない点も多い。本論文では、このように細胞にとって重要なRNase Hという分子の多様性と生物界における分布について、解析および考察している。本研究の成果を要約すると以下のとおりである。

- (1)一次構造に基づき、RNase Hをタイプ1 RNase Hとタイプ2 RNase Hの2つに分類することを提案している。
- (2)これまでタイプ2 RNase Hに関しては、大腸菌由来のものしか解析されておらず、しかもその活性が極めて弱いことからRNase Hという酵素と断定して良いのかも疑わしいものであったが、本研究では、大腸菌、枯草菌、SIB 1株由来のタイプ2 RNase Hの解析から、タイプ2 RNase Hが実際にRNase H活性を有する酵素であることを明らかにしている。
- (3)ゲノム解析の結果、これまで研究の進んでいたタイプ1 RNase Hは枯草菌など一部のバクテリアやArchaeaには存在せず、あらゆる生物に普遍的に存在するものではないことを明らかにしている。これに対し、これまであまり解析の進んでいなかったタイプ2 RNase Hの方が、実際にはあらゆる生物に普遍的に存在するのを見出ししている。
- (4)大腸菌、枯草菌、SIB 1株のRNase Hの解析から、細胞内に複数のRNase Hが存在する場合、その組み合わせや活性の強さ、特性は種によって多様であることを明らかにしている。また、それらは互いに関連しあって多様化しているのではないかと推測している。

以上のように、本論文は、RNase Hを生化学特性および一次構造に基づいて分類し、その生物界における分布を明らかにした点で意義深い。実際、本研究からタイプ2 RNase Hの重要性が認識されるようになり、タイプ2 RNase Hに関する研究は急速に進展しつつある。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。