

Title	STRUCTURAL STUDIES ON THERMOSTABLE PROTEINS FROM HYPERTHERMOPHILIC ARCHAEON PYROCOCBUS KODAKARAENSIS KOD 1
Author(s)	橋本, 博
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3169367">https://doi.org/10.11501/3169367</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	橋本博
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第15404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 工学研究科物質化学専攻
学位論文名	STRUCTURAL STUDIES ON THERMOSTABLE PROTEINS FROM HYPERTHERMOPHILIC ARCHAEON <i>PYROCOCCLUS</i> <i>KODAKARAENSIS</i> KOD 1 (超好熱菌由来の耐熱性タンパク質に関する構造研究)
論文審査委員	(主査) 教授 甲斐 泰
	(副査) 教授 大島 巧      教授 野島 正朋      教授 小松 満男 教授 足立 吟也      教授 城田 靖彦      教授 平尾 俊一 教授 新原 皓一      教授 田川 精一

### 論文内容の要旨

本論文は、超好熱始原菌 *Pyrococcus kodakaraensis* KOD 1 株の産出する2種の耐熱性タンパク質の立体構造と機能の相関について述べており、緒言、本論2章、および総括から構成されている。

緒言では、本研究の背景ならびに目的と意義を述べ、研究の概略についても示している。

第1章では、KOD 1 株の産出するDNAポリメラーゼの結晶構造解析について述べた。DNAポリメラーゼは全ての生物に存在し、細胞分裂の際にDNAを正確に複製する酵素である。このうち、耐熱性DNAポリメラーゼは遺伝子を人工的に増幅する反応(PCR)に利用されており、基礎研究のみならず、医療現場でも広く使用されている。本研究で取り上げたDNAポリメラーゼもPCRに利用されている耐熱性DNAポリメラーゼであるが、他に比べてDNA複製の正確さが極めて高く、さらにDNA合成の速度は、これまでに知られているもののうちで最も速い。活性部位近傍で本酵素と他のDNAポリメラーゼとの比較を行うことにより、DNA複製の正確さを考察している。

第2章では、KOD 1 株の産出するDNA修復タンパク質O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNAメチルトランスフェラーゼの結晶構造解析について述べている。本タンパク質は、80°Cで一晩放置しても立体構造に変化は見られないほど、非常に熱に対して安定である。この優れた熱安定性を大腸菌が産出する同族タンパク質の立体構造と比較することで構造化学的に解明している。その結果、両者で分子表面の性質が大きく異なっており、KOD 1 株由来ではその分子表面が電荷を持つアミノ酸で覆われていることを見いだしている。また、分子内イオンペアの比較を行ったところ、イオンペアの総数はほぼ同数であったが、位置に違いがみられている。KOD 1 由来ではイオンペアのほとんどが $\alpha$ ヘリックス内、あるいはヘリックスとヘリックスの間に位置している。すなわち、 $\alpha$ ヘリックス内のイオンペアはヘリックスの螺旋構造つまり二次構造を安定化し、ヘリックス間のイオンペアは分子内パッキングつまり三次構造を安定化している。また活性部位は $\alpha$ ヘリックスに囲まれた分子内部に存在するが、それらのヘリックスがイオンペアで強化され、さらに連結されていることを明らかとしている。

総括では第1章、2章の研究結果をまとめ、DNAポリメラーゼ、O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNAメチルトランスフェラーゼの構造機能相関について示している。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、超好熱始原菌 *Pyrococcus kodakaraensis* KOD 1 株の産出する 2 種のタンパク質、DNA ポリメラーゼ、O<sup>6</sup>-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ (MTase) の結晶構造解析を行うことで、構造と機能との相関を明らかにするのが目的である。

主な結果を要約すると次の通りである。

- (1) 超好熱始原菌 *Pyrococcus kodakaraensis* KOD 1 株由来 DNA ポリメラーゼの結晶構造を 3.0 Å 分解能で決定し、その電子密度から鑄型 DNA 鎖の結合部位を同定している。
- (2) KOD ポリメラーゼと近縁な *Pfu* ポリメラーゼとのアミノ酸の違いから、KOD ポリメラーゼの優れた遺伝子増幅能を構造化学的に考察している。
- (3) 超好熱始原菌由来では初めての例である *Pyrococcus kodakaraensis* KOD 1 株由来 MTase の結晶構造を 1.8 Å 分解能という高分解能で決定している。
- (4) 常温で生育する大腸菌由来の MTase の立体構造と比較することで、KOD 1 株由来 MTase では  $\alpha$  ヘリックス内のイオンペアによってその螺旋構造 (二次構造) が補強され、ヘリックスとヘリックスの間のイオンペアによって分子全体のフォールディング (三次構造) が安定化されていることを明らかにしている。

以上のように、2 種のタンパク質の立体構造決定によって、それぞれ機能との相関に関する知見が得られており、特に(2)は遺伝子増幅機能向上、(4)は有用酵素の耐熱化、を目指す技術開発において極めて重要な成果である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。