

Title	A New Peptide Antibiotic Produced by <i>Bacillus subtilis</i> 168 : Isolation, Structural Analysis, and Biogenesis.
Author(s)	Babasaki, Katsuhiko
Citation	
Issue Date	
oaire:version	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24326
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	ばばさき かつ ひと 馬場崎 勝彦
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 6787 号
学位授与の日付	昭和60年3月25日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	枯草菌 168 株の産生する抗菌性物質の研究
論文審査委員	(主査) 教授 倉橋 潔 (副査) 教授 松原 央 教授 佐藤 了 教授 崎山 文夫

論 文 内 容 の 要 旨

枯草菌を含む、バチルス属の細菌は、栄養条件が悪化すると、胞子を作り休眠することが知られている。この胞子形成過程は、古くから、細胞の分化の一つのモデル系として、興味を持たれ、広汎に研究されて来た。また、この過程に産生される抗菌性物質は、胞子形成となんらかの関係があるものと示唆されて来たが、明確な結論を得るまでに至っていない。胞子形成と抗菌性物質の産生との相関性を研究するためには、遺伝学的、生化学的に良く研究されている細菌を使用することが、必須と考え、私は、枯草菌 168 株を利用して、胞子形成能と抗菌性物質の産生能、および、その胞子形成への作用との関係を研究することを計画した。この菌の抗菌性物質については、まったく分っていなかったので、まず、構造解析を行い、続いてそのものの生理的作用等を研究することとした。

菌を胞子形成培地で培養し、その培地からブタノール抽出、セファデクスLH-20ゲル濾過、薄層クロマトグラフィー等によって、サチロシンAと命名した抗菌性物質を、約7割の収率を持って分離、精製した。これは、疎水性ペプチドで、アミノ酸分析、質量分析の結果から、分子量3398.9, 32残基の普通のアミノ酸と2残基の未知成分より構成されていることが分った。グラム陽性菌に対し抗菌活性を有した。アミノ末端、カルボキシ末端はブロックされており、D-アミノ酸、糖は含まれていなかった。全アミノ酸配列は、キモトリプシン、サーモライシン消化物、および、酸水解物をエドマン分解法を利用して配列決定することによって決定した。分子内架橋構造に関する実験から、システイン-19とグルタミン(又は、グルタミン酸)-28の間で、まったく新しい結合を発見した。また、アミノ末端とカルボキシル末端が結合していることも分り、サチロシンAは環状ペプチドであることが分った。サチロシンAの産生は、栄養増殖停止後、胞子が出現するまでに起り、それは主に培地に分泌される。1リ

ットル当り最大8 mgのサチロシンAの産生がみられる。孢子形成誘導剤のデコイニンや孢子形成能欠損変異菌を用いたサチロシンAの産生と孢子形成との相関性に関する実験は、これらの間には相関性がないことを示した。また、タンパク質合成阻害剤、RNA合成阻害剤が、サチロシンAの合成を阻害することより、多くの抗菌性ペプチドと異なり、メッセンジャーRNAーリボソームに依存した合成機構で合成されるものと考えられる。サチロシンAの産生は、グルコースによっても抑制される。サチロシン様抗菌性物質の産生は、*Bacillus natto* および *B. subtilis* ATCC6633でも見られた。

論文の審査結果の要旨

バシラス属の細菌は炭素源や窒素源が涸渇すると、栄養増殖を止め、孢子形成を行うと同時に、種々の抗菌性物質を産生するが、孢子形成能が遺伝子の変異によって失われると、それらの産生能も失われるので、両者の間には、密接な関係が存在するものと考えられてきた。しかし、実際にはこれを支持する或いは反対の相反する結果が得られて居り、未だに明確な結論は出ていない。

馬場崎君は遺伝学的に最もよく研究されている枯草菌168株を用いてこの点を明らかにしようと考え、先ずその産生する抗菌性ペプチドの研究に着手した。この株は約10種の抗菌性ペプチドを産生するが、その中、特に対数増殖期末期から定常期初期にかけて産生される抗菌性物質に注目し、分離、精製した。このものは、分子量3400、アミノ酸残基32箇よりなるペプチド性抗菌性物質であることが判明し、そのアミノ酸配列を決定し、サチロシンAと命名した。サチロシンAのN末端は未知のグループでマスクされて居り、更にそれがC末端と結合していること、又分子中の19番目のシステインが未知のグループを通して28番目のグルタミン(或いはグルタミン酸)と分子内架橋構造を作っていることも明らかにした。

サチロシンAの産生はクロランフェニコール、カナマイシン、リファマイシン等の蛋白質、核酸合成阻害剤で阻害されることにより、グラミジジンS、チロシジン等の抗菌性ペプチドとは異なり、蛋白質合成系で合成されるものと結論した。又種々の孢子形成能欠損変異と孢子形成誘導剤、デコイニンが及ぼすサチロシンA産生能に対する影響からは、孢子形成とサチロシンA産生との間の相関関係は見出されなかった。

以上、馬場崎君の研究は遺伝学的、生化学的に広く研究され乍ら、その抗菌性物質については何等の知見も得られていなかった枯草菌168株の抗菌性ペプチド、サチロシンAの構造を明らかにし、それが multienzyme thiotemplate mechanism ではなく蛋白質合成系で合成され、更に孢子形成能との相関関係をもたないことを明瞭に結論づけたもので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。