



Title	BIOSYNTHESIS OF POLYMYXIN E
Author(s)	Komura, Sadaaki
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/24436
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	幸 村 定 昭
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 0 8 4 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ポリミキシンEの生合成
論文審査委員	(主査) 教 授 倉 橋 潔
	(副査) 教 授 佐 藤 了 教 授 成 田 耕 造

論 文 内 容 の 要 旨

ポリミキシンEはグラム陰性菌に有効な抗菌性ペプチドで、分枝鎖をもつ環状構造を有する。その構成アミノ酸は、L-2, 4-ジアミノ酪酸(6残基)、L-ロイシン(1残基)、D-ロイシン(1残基)およびL-スレオニン(2残基)であり、N末端のL-2, 4-ジアミノ酪酸の α -アミノ基はアシル化されている。

本研究は、無細胞酵素系を用いてポリミキシンEペプチドの生合成機構を解析したものである。

ポリミキシンE産生菌、*Aeroaobcillus polyaerogenes* の粗抽出液に、L-2, 4-ジアミノ酪酸(以下DABと呼ぶ)依存性のATP-PP_i交換反応を触媒する酵素(以下DAB活性化酵素と呼ぶ)活性を見出した。菌増殖中におけるDAB活性化酵素とポリミキシンEの産生量との間には強い相関性が認められた。すなわち、DAB活性化酵素活性は、ポリミキシンEの産生に先立って出現し、ポリミキシンEの産生量が最大に達するとその活性は急激に低下した。対数増殖期後半に於て、DAB活性化酵素活性は最大であった。

対数増殖期後半に集めた菌体を音波処理して得られた粗抽出液から、超遠心分画、硫酸アンモニウム分画、DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーないしSepharose 4Bゲルろ過法により、DAB活性化酵素を精製した。本酵素はDAB以外に、ポリミキシンEの構成アミノ酸であるL-ロイシンおよびL-スレオニンも活性化する能力を有し、又、これら三種類のアミノ酸はチオエステル結合で酵素たん白質に結合することが明らかになった。この結果は、ポリミキシンEの生合成においても“multienzyme thiotemplate mechanism”が関与していることを示唆する。

DAB活性化酵素とDAB、オクタノイルCoAとをATPおよびMg²⁺存在下に反応させると、酵素にチオエステル結合したN²-オクタノイルDABが生成した。なお、このアシル化反応には、DAB活

性化酵素の他に、アシルトランスフェラーゼが必要であり、この活性は硫酸アンモニウム画分に認められた。アシル供与体非存在下では、ペプチド形成が認められないことから、ポリミキシンEのペプチド合成開始には、酵素に結合したDABのアシル化の反応が重要と考えられる。

DAB活性化酵素とアシルトランスフェラーゼ画分を用い、ポリミキシンEの全合成に成功した。

以上、ポリミキシンEの生合成に関与する酵素を精製し、その性質を明らかにした。さらに、ポリミキシンEの全合成ができる系を確立し、その生合成の機構を解析した。

論文の審査結果の要旨

ポリミキシンEはバシラス コリスチヌス又は、アエロバシラス ポリアエロゲネス菌によって産生されるグラム陰性菌に有効なペプチド性抗生物質である。その構造上の特徴は、アミノ酸残基10箇中に6箇の2,4-ジアミノ酪酸が存在し、N末端のジアミノ酪酸は、6-メチルオクタン酸、イソオクタン酸或いはオクタン酸によりアシル化され、C末端の7箇のアミノ酸残基が環状構造を形成している点である。

幸村君はこの蛋白質中には見出されないジアミノ酪酸に注目し、ポリミキシンE産生菌よりジアミノ酪酸活性化酵素を部分精製した所、この酵素は、ジアミノ酪酸のみならず、他の構成アミノ酸、ロイシン、スレオニンをも活性化し、チオエステル結合によって酵素に結合することを見出した。このことは、ポリミキシンEもグラミジジンS、チロシジン同様蛋白質生合成系とは異なり、多酵素チオ鑄型機構によって合成されることを示唆するが、酵素結合中間体ペプチドの合成は見られなかった。

幸村君は上記のジアミノ酪酸をチオエステル結合する酵素系に、オクタノイルCoAと粗酵素の硫酸画分を加えることにより、酵素結合ジアミノ酪酸がオクタノイル化されることを明らかにし、更にこの系にロイシン、スレオニンを加えることにより、ポリミキシンEの全合成を達成することができた。

以上、幸村君の研究は、過去十数年に亘り、米国のポーラス博士等が研究して果せなかったポリミキシン系抗菌性ペプチドの無細胞酵素系による全合成を達成したもので、その詳細な機構の解明は将来の研究に俟つとしても、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。