The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bacillus brevis ATCC8185菌の無細胞酵素系によるグラミシジンAの生合成
Author(s)	赤司, 克彦
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32099
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【5】

氏名・(本籍)	赤司克彦（あかし かつひこ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 4050 号
学位授与の日付	昭和52年9月30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	**Bacillus brevis ATCC8185菌の無細胞酵素系によるグラミシジンA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

グラミシジンAは，*Bacillus brevis* ATCC8185菌によって産生される抗菌性ペプチドであるが，グラミシシジンS，チロシンジン等とは異なって環状構造をとらず，N-端にホルミル基，C-端にエエタノールアミンを持つ，次の様な構造のペンタデカペプチドである。CHO-Val-Gly-Ala-D-Leu-Ala-D-Val-Val-D-Val-Trp-D-Leu-Trp-D-Leu-Trp-D-Leu-Trp-$NHCH_2CH_2OH$。

グラミシジンA構成アミノ酸依存のATP-PPi交換反応活性を指標にして，グラミシジンA合成酵素系の各成分酵素の部分精製を試みた結果，四つの酵素画分〔Component Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ〕を分離し，部分精製した。

Component ⅠはN-端部分，Val-Gly配列の合成に関与していることが，グラミシジンA構成アミノ酸依存のATP-PPi交換反応活性や，バリン，グリシンが1：1の比でComponent Ⅰにチオエステル結合することによって示唆された。この酵素反応系に，ホルミルテトラヒドロ葉酸(formyl THFA)を添加すると，formylvalineとformylvalylglycine がComponent Ⅰに結合した中間体として生合成されることが確認された。また，この様な条件下では，ホルミル基のついていない中間ペプチドは生成されなかった。これらの事実は，Lipmann達の主張――グラミシジンAの合成系において，ホルミル化は，ペンタデカペプチド鎖の完成後に起る――を否定する。種々の実験事実により，N-端バリンのホルミル化は，Component Ⅰに結合したバリンに対して，Component Ⅰそれ自身に存在するtransformylaseがformyl THFAから，ホルミル基を転移することによって起ることが明らかにされた。

同じく部分精製されたComponent Ⅱは，formyl-Val-Gly配列に続く，Ala-D-Leu-Ala-D-Val

配例の生合成に関与することが示された。Component Ⅱを上記反応系に加えると，さらにペプチド鎖の伸びた，ホルミル基のついた中間ペプチド formyl-Val-Gly-Ala, formyl-Val-Gly-Ala-Leu- 等の生合成が確認された。

さらに，その酵素的諸性質は，まだ明らかではないが，Val-D-Val配列とTrp-D-Leu-Trp-D-Leu-Trp-D-Leu-Trp 配列の生合成に，それぞれ関与していると考えられる，Component Ⅲ，並びにⅣを，残りのグラミシジンA構成アミノ酸と共に上記反応系に添加して，酵素反応を行なわせた後，生成した種々の中間ペプチドをEthanolaminolysis によって酵素蛋白より遊離させ，それらをTLCによって分析した結果，グラミシジンAと同定されるものの生成が確認された。

以上の結果により，グラミシジンAの生合成は，グラミシジンA生合成開始複合体の形成——Component Ⅰによるバリンのホルミル化——の後，ホルミルバリンが，Component Ⅰに結合したグリシンに転移され，formyldipeptide が生じ，さらに，そのformyldipeptideがComponent Ⅱに結合したアラニンに転移され，formyltripeptide を生ずるという様に，ペプチド鎖の伸長がグミシジンSやチロシジン等の生合成と類似の機構で行なわれ，順次，Component Ⅲ，Ⅵの触媒で，酵素に結合したホルミルペンタデカペプチドまでの合成が行なわれるものと考えられる。C-端のエタノールアミンの導入に関しては，今後の研究に待たねばならない。

論文の審査結果の要旨

蛋白質の生合成は，核酸，リボソームの関与のもとに行なわれることが明らかにされたが，蛋白質よりは小さい分子量 1,000乃至 2,000程度のオリゴペプチドが，蛋白質と同様の機構で合成されるのか，或いは，全く別の機構によって行なわれるものなのかは大いに議論を呼んだ問題であった。

近年Bacillus brevis 菌によって産生される抗菌性環状デカペプチド，Gramicidin S. Tyrocidine 等が，核酸，リボソームの関与なしに，可溶性酵素のみによって合成されることが，明らかにされたが，赤司君は，それらよりも更に分子量の大きい，N-端にホルミル基を有し，C-端にエタノールアミンをもつ，ペンタデカペプチド，グラミシジンAの無細胞酵素系による，合成機構の研究を行なった。

赤司君は，グラミシジンA合成に関与する4つの酵素画分の分離，部分精製を行ない，その諸性質を明らかにすると共に，画分Ⅰは，N-端のバリンを活性化し，酵素自身に，チオエステル結合し，更に，ホルミルテトラヒドロ葉酸の存在下に，画分Ⅰに存在するトランスホルミラーゼの働きにより，ホルミルバリンが形成されることを明らかにした。同君は上記の酵素系に更に，グラミシジンAの構成アミノ酸と，各酵素画分を加えることにより，ホルミルバリンより，段階的に，1ケづつアミノ酸残基が伸長したグラミシジンAの中間体ペプチドの生合成に成功し，最後に，酵素に結合したホルミルペンタデカペプチドをエタノールアミノリシスすることによって，グラミシジンAと同定されるものを得た。

以上，赤司君の研究結果は，グラミシジン全合成の最後の段階，エタノールアミン導入の機作については，明らかにし得なかったが，ホルミル基の導入の機作，ペプチド鎖の伸長につき，全く新しい知見を加えたもので，アミノ酸配列のきまった15ケのアミノ酸残基よりなるペプチドの合成が，核酸の関与なしに行なわれるという，蛋白鋳型機構の概念を更に発展させたもので，理学博士の学位論文文として，十分価値あるものと認める。