

Title	gyr B変異ピリドンカルボン酸耐性大腸菌に関する研究
Author(s)	山岸, 純一
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35734
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・(本籍)	やま 山	ぎし 岸	じゅん 純	いち 一
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	8035	号	
学位授与の日付	昭和63年3月17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	gyr B変異ピリドンカルボン酸耐性大腸菌に関する研究			
論文審査委員	(主査)			
	教授	小川 英行		
論文審査委員	(副査)			
	教授	森田 敏照	教授	松原 謙一 助教授 伊藤 建夫

論文内容の要旨

ナリジクス酸 (NA) およびピペミド酸 (PPA) などのピリドンカルボン酸系抗菌剤 (PCA) の分子レベルでの作用点は、DNA gyrase という DNA 鎖のトポロジーを変化させる酵素であると考えられている。大腸菌の DNA gyrase は、subunit A と subunit B が各々 2 分子からなるテトラマーであり、それら subunit は染色体地図上 48 分および 83 分に位置する gyr A および gyr B 遺伝子により生産される。一般に NA 耐性は gyr A 変異により生じ、ノボビオシン (NB) 耐性は gyr B 変異により生じると考えられている。また PCA 間の耐性は不完全であることが認められている。私は PCA の耐性菌を分離し、遺伝学および生化学的検討を行った。

分離した耐性変異株は、染色体上の変異の位置から 2 つのグループに分類した。1 つは nal-51 のような染色体地図上約 48 分に位置する変異で DNA gyrase 活性と関係があることから、その変異は gyr A 遺伝子上にあると考えられた。gyr A 遺伝子は以前は nal A と呼ばれており、Hane らによって見つけられた NA 耐性遺伝子の 1 つである。他方は約 83 分に位置する変異で nal-31 のように NA に高度耐性で PPA には逆に親株より高感受性を示す変異や nal-24 のように NA と PPA に同時に耐性を示す変異などが認められた。これら変異もまた DNA gyrase 活性と関係があることから、これらは gyr B 遺伝子上の変異と推定された。gyr B 遺伝子は以前は cou と呼ばれておりクーママイシン Al および NB 耐性遺伝子であると考えられていた。しかし本研究により初めて gyr B 遺伝子上に変異をもつ NA 耐性変異株が見出された。さらに遺伝子クローニングによりその変異の位置ならびに種類が決定された。その結果、nal-31 変異は野性型 gyr B 遺伝子の 1339 番目の塩基 A が G に変化した transition 変異でありアミノ酸はリジンからグルタミン酸に変換していた。また nal-24 変異は 1276 番目の塩基 G が A に変

化したtransition変異でありアスパラギン酸がアスパラギンに変換したことが判明した。これらアミノ酸変化による電荷の状態と薬剤の荷電との関係によりDNA gyraseのsubunit Bと薬剤の親和性に差が生じ、それが標的酵素に対するPCA間の作用の強弱の一要因となるように考えられた。このように遺伝子レベルでの解析を行うことによって、PCA耐性はDNA gyraseをコードする2つの遺伝子(gyr Aとgyr B)のいずれの変異によっても生じるという事実が初めて明らかにされた。

PCA間の不完全交差耐性機序は、それら薬剤間の物性にに基づく標的酵素までの透過性の差ならびに、標的酵素つまりDNA gyraseに対する作用の強さの差によるものであろうと結論される。

論文の審査結果の要旨

薬剤耐性菌の出現は、臨床上きわめて重大な問題である。その耐性菌の耐性機構を明らかにしていく過程から、生体の仕組の分子機構が解明された例も非常に多い。

山岸君は、抗生物質耐性菌、特に多剤耐性菌が増加してきて、それと交差耐性を示さないピリドンカルボン酸系抗菌剤が多用されてきていることに注目し、この薬剤に対する耐性菌の研究を行った。そしてこの薬剤の標的蛋白質を明らかにし、その蛋白質の構造を明らかにしたのがこの論文である。

ピリドンカルボン酸抗菌剤の代表的薬剤であるナリジクス酸とピロミド酸に対する耐性菌をそれぞれ多数分離し、他のピリドンカルボン酸抗菌剤に対する耐性度を先ず調べた。その結果一つの薬剤に高度耐性を示した株が他の薬剤に対して野性型株よりも高度の感受性を示す例が発見された。これは今回初めて見いだされたもので臨床上も注目される発見である。

これら耐性菌の変異遺伝子の同定を遺伝学的手法で行なった結果、従来この薬剤の標的蛋白質の遺伝子といわれてきたgyr Aの他に全く新しい遺伝子が発見されていることが明らかになった。その遺伝子を遺伝学的手法により詳細に調べ、その機能も明らかしたところ、それはgyr B遺伝子で、gyr Aと共にジャイレースを構成するものであることが明らかになった。これは初めて明らかにされたことである。更にこのgyr B遺伝子をクローニングし、その塩基配列の決定を行い、その結果の解析からgyr B遺伝子の全構造とジャイレースサブユニットBのアミノ酸全配列を明らかにした。これも世界に先がけて行なわれたことである。これらの一連の研究は、ピリドンカルボン酸系の抗菌剤の標的蛋白質を明らかにしたばかりでなく、その標的蛋白質であるジャイレースの持つ機能の分子機構を解析する強固な基礎を確立したもので理学博士の学位論文として十分価値のあるものと認める。