The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	放線菌Streptomyces Virginiaeのvirginiamycin生産誘導因子結合蛋白質
Author(s)	金, 現洙
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37001
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

【 6 】

氏名・（本籍）	金（きむ）　現（ひよん）　洙（す）
学位の種類	工　学　博　士
学位記番号	第　9152　号
学位授与の日付	平成2年3月24日
学位授与の要件	工学研究科醗酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**放線菌 *Streptomyces Virginiae* の virginiamycin 生産誘導因子結合蛋白質**
論文審査委員	（主査） 教授 山田 靖宙 教授 二井 将光　教授 岡田 弘輔　教授 菅 健一 教授 高野 光男　教授 大嶋 泰治　教授 吉田 敏臣 教授 今中 忠行

論文内容の要旨

放線菌の形態分化や2次代射を制御する様々な自己調節因子が発見されており，その分子レベルにおける調節機能の研究が最近始められた。本論文では放線菌 *Streptomyces Virginiae* が生産する抗生物質のヴァージニアマイシンの生産誘導因子，ヴァージニアブタノライド（VB）の作用機構解明の端緒となる研究をまとめたものであり，緒論，総括を含む5章からなる。

第1章では，原核生物である放線菌の形態分化，2次代謝物質の生産，醗酵工業上の利用面，他の微生物における分化の制御に関与する因子，本研究に用いたヴァージニアマイシン生産誘導因子（VB）の性質を述べ，本研究の目的及びその内容の概略を述べている。

第2章では，誘導因子（VB）類の中で，VB－Cを選び，その構造と活性の相関を合成した種々のアナログを用いて調べた結果を述べている。抗生物質誘導にかかわる部分構造としては，VBの3－ヒドロキシメチル－2－（1′－ヒドロキシアルキル）ブチロラクトン構造の中で，2つの水酸基と2,3－cisの立体配置，及び2位のアルキル側鎖の一定の長さ（C7－C8）が必須であることを明らかにしている。

第3章では，〔^{3}H〕VB－C7をリガンドとして合成し，*S. virginiae* の細胞内タンパク質中，VB－C結合タンパク質の存在を検索した結果を述べている。平衡透析法及び，ゲルろ過法によりVB－C結合タンパク質の存在を確認し，リガンド結合活性の濃度依存性から高親和性タンパク質（Kd 1.1nM）であることを明らかにしている。又，その存在量は，ゲノムDNA当り，30－40個の極微量であることを指摘している。

第4章では，微量に存在する結合タンパク質の精製の際，結合タンパク質の安定性にKClが必須であること，その迅速定量法としてヘモグロビンを用いた硫安沈澱法が有用であることを述べている。精製法としては，イオン交換，及びゲルろ過クロマトグラフィー，逆相HPLCを利用し，結合タンパク質を粗

抽出液より７１０倍精製している。更に１４％ＰＡＧＥとＶＢ－Ｃアフィニティークロマトグラフィーを用いて結合タンパク質を確認し，ゲルスライス法，Ｃ４逆相ＨＰＬＣで6,３００倍に精製し，ＳＤＳ－ＰＡＧＥによりその分子量を３５,８００と決定している。又，ＤＮＡの存在がその結合活性を低下させることも指摘している。

第５章では，以上の結果を要約し，本結合タンパク質が自己調節因子ＶＢのレセプターであり放線菌の形態分化と２次代謝の調節のシグナル伝達に関与している可能性を指摘している。

論文の審査結果の要旨

Streptomyces 属放線菌は原核生物であるが，形態分化をし，抗生物質をはじめとする多くの有用２次代謝物質を生産する醗酵工業上重要な微生物である。その分化，２次代謝を制御する信号伝達物質としてブタノライド骨格をもつ一連の自己調節因子が発見されており，その作用機構は基礎及び，応用微生物学の両面から注目されている。*Streptomyces virginiae* は有用抗生物質ヴァージニアマイシンを生産し，その誘導因子ヴァージニアブタノライド（ＶＢ）類が分離，構造決定されている。本論文はその作用機構解明の端緒を開くことを目的としてＶＢ結合タンパク質の存在を確認し，精製法を調べたものであり，その成果を要約すれば次の通りである。

(1) ＶＢアナログを多数合成し，活性発現に必要な基本構造を抽出している。この成果に基づき，ＶＢ結合タンパク質の精製，その特定に必要なアフィニティークロマトグラフィー用リガンド分子，放射性同意元素を含むＶＢ分子を考察し，その合成をしている。

(2) 放射性ＶＢ（〔^{3}H〕ＶＢ－Ｃ７）を用いて平衡透析法，ゲルろ過により *Streptomyces virginiae* 細胞中にＶＢ結合タンパク質が存在することを確認し，ＶＢとの親和性がKd １.１nM と非常に高く，ゲノムＤＮＡ当りの含有量も３０－４０分子と極微量であることを明らかにしている。

(3) ＶＢ結合タンパク質の精製を迅速に進めるため，活性測定法としてヘモグロビン存在下の硫安沈澱法が最適であることを見いだしている。この測定法により精製を進め，粗細胞抽出液よりイオン交換，ゲルろ過クロマトグラフィー，逆相ＨＰＬＣを経て７１０倍に精製している。更にＰＡＧＥ，Ｃ４－逆相ＨＰＬＣにより約6,３００倍に精製し，分子量を３５,８００と決定している。

(4) ＶＢアナログをリガンドとしたアフィニティーカラムクロマトグラフィーを調製し，これを用いて，精製したタンパク質が目的のＶＢ結合タンパク質であることを確認している。

(5) ＶＢ結合タンパク質の活性がＤＮＡ存在下３０－４０％低下することを見いだし，ＤＮＡとの結合の可能性を示唆している。

以上のように，本論文は *Streptomyces* 属放線菌の信号伝達物質に結合タンパク質が存在することを明らかにしたものであり，放線菌の分化，２次代謝制御機構の今後の研究の進歩に有用な基礎資料を与え，その成果は微生物学，抗生物質生産に寄与するところが大きい。よって，本論文は博士論文として価値あるものと認める。