The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	芽胞形成菌の生活環における生理的変動に関する基礎的研究
Author(s)	崔, 承泰
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38767
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

【 2 】

氏　　名	崔（ちえ）　承（すん）　泰（て）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　10965　号
学位授与年月日	平成 5 年 10 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科　応用薬学専攻
学位論文名	**芽胞形成菌の生活環における生理的変動に関する基礎的研究**
論文審査委員	（主査） 教 授　近藤　雅臣 （副査） 教 授　三村　務　教 授　三浦　喜温　教 授　西原　力

論文内容の要旨

UDP-GlcNAc は enoylpyruvate transferase によって細胞壁，コルテックスに，UDP-GlcNAc- 4 -epimerase によって芽胞殻最外層に代謝される。芽胞はその内側よりコア，コルテックス，芽胞殻で構成されているが，コルテックスのペプチドグリカンは栄養型細胞の細胞壁と比べ，その架橋度が低いといわれている。また，芽胞殻は複数のタンパク質および galactosamine- 6 -phosphate のポリマーより構成される。コルテックスおよび芽胞殻の galactosamine- 6 -phosphate ポリマーはいずれも芽胞に特異的な構成成分であり，両方とも UDP-GlcNAc を前駆体として生合成される。しかし，対数増殖期，芽胞形成期を通して細胞壁生合成からコルテックス生合成への切り替え，および enoylpyruvate transferase と UDP-GlcNAc- 4 -epimerase との発現調節機構はまだ明らかにされていない。

そこで本研究では *B. megaterium* ATCC12872菌を用いて細胞壁とコルテックスの生合成におけるヌクレオチド前駆体生合成の最初の酵素である enoylpyruvate transferase について調べるとともに P48の外層形成における機能を明らかにする目的で P48のアミノ酸配列を決定し，さらに，このアミノ酸配列を利用して，P48遺伝子の単離および解析を試みた。Enoylpyruvate transferase の至適 pH は対数増殖期で8. 5，芽胞形成期で7. 5を示した。Km 値は UDP-GlcNAc がそれぞれ0. 07mM と0. 24mM，PEP がそれぞれ0. 05mM と0. 06mM であった。精製の結果，対数増殖期の62kDa と芽胞形成期の47kDa のタンパク質が得られた。47kDa のタンパク質から作られた抗体を用いた immunoblot の結果より対数増殖期と芽胞形成期の本酵素に対する抗原性が違うことが分かった。以上のことから対数増殖期と芽胞形成期での enoylpyruvate transferase は同じ機能を持つ，構造が違うイソ酵素で存在することが分かった。

一方，現在までに知られていた芽胞殻タンパク質の抽出法を改良して大量，さらに精製された P48を得ることができた。精製された P48を用い，アミノ酸配列を決定し，これに基づいて合成オリゴヌクレオチドを作製した。合成オリゴヌクレチオドおよび特異抗体より得られた DNA1. 5kb の DNA 断片をプローブとして *B. megaterium* ATCC 12872菌の全 DNA の制限酵素消化断片に対してサザンブロット解析を行った結果，4. 7kb および4. 3kb の DNA 断片

が得られた。このことより，*B. megaterium* ATCC12872菌のクロモソーム DNA の *Eco*RI 消化断片の4.7kb および4.3kb の DNA 断片に P48がコードされていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

B. megaterium ATCC12872を用いて細胞壁とコルテックスの生合成に関与する enoylpyruvate transferase に関する検討ならびに芽胞殻タンパク質 P48のアミノ酸配列を決定することにより P48遺伝子の単離，解析を試み次の結果を明らかにした。すなわち，enoylpyruvate transferase の分子量は対数増殖期で62kDa，芽胞形成期で47kDa であり抗原性が違うことから 2 種類の酵素が存在することを明らかにした。また，芽胞殻タンパク質 P48のアミノ酸配列から26mer の合成オリゴヌクレオチドを作成し，これをプローブとしてスクリーニングを行った結果，4.7kb DNA 断片を得，この断片中に P48生合成遺伝子が存在することを明らかにした。

以上の研究成果は細菌芽胞外被構造の生合成機作に関す研究に新しい知見を加えるものであり，博士（薬学）を授与するにふさわしいものと判定した。