

Title	放線菌 <i>Streptomyces virginiae</i> の <i>virginiae</i> butanolide 結合タンパク質
Author(s)	岡本, 晋
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38795
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	おがもと 岡本晋
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 11350 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科醗酵工学専攻
学位論文名	放線菌 <i>Streptomyces virginiae</i> の <i>virginiae</i> butanolide 結合タンパク質
論文審査委員	(主査) 教授 山田 靖宙 教授 今中 忠行 教授 卜部 格 教授 大嶋 泰治 教授 新名 惇彦 教授 菅 健一 教授 高野 光男

論文内容の要旨

本論文は放線菌の分化及び二次代謝物質の生産を誘導する自己調節因子の作用機構解明に関する研究成果をまとめたものである。virginiae butanolide (VB) は低分子化合物で、放線菌 *Streptomyces virginiae* 自身が生産する自己調節因子であり、この菌株が培地中に蓄積する抗生物質、virginiamycin の生産を数 nM の低濃度で誘導する微生物ホルモン様物質である。VB は *S. virginiae* の細胞中に存在する VB 結合タンパク質を介して、その機能を発現すると考えられ、そのタンパク質の存在は確認されていた。本論文は VB 結合タンパク質を精製し、その遺伝子のクローニング、構造解明、大量生産を行い、本タンパク質の機能解明の基礎となる研究をまとめたものであり、緒論、総括を含む6章からなる。

第1章では、放線菌一般及び VB に関するこれまでの研究をまとめて解説し、本研究の目的と概要を述べている。

第2章では、VB 結合タンパク質の第一候補と考えられた VbrA タンパク質の精製過程及びその遺伝子 (*vbrA*) のクローニングについて述べ、その一次構造を決定している。

第3章では、*S. virginiae* における *vbrA* 遺伝子の発現をノザン・プロット法により解析し、その経時変化を明らかにしている。また、大腸菌における VbrA タンパク質の発現及びその機能解析について述べ、VbrA タンパク質が VB 結合活性を有さないことを明かにしている。

第4章では、VB 結合タンパク質の再精製について述べ、分子量約 26,000 の p26k と命名したタンパク質が、VB 結合タンパク質であることを明らかにしている。

第5章では、VB 結合タンパク質 p26k の構造遺伝子クローニングについて述べ、その一次構造を明らかにしている。また、クローン化した遺伝子の放線菌 *S. lividans* Tk21 及び大腸菌での発現について述べ、p26k タンパク質が VB 結合タンパク質そのものであることをあきらかにしている。さらに、ここで発現させた VB 結合タンパク質の VB に対する親和性が *S. virginiae* 細胞中に存在する本来の VB 結合タンパク質のそれより、10分の1以下であることを示し、その原因について考察している。

第6章では、以上の研究の成果を要約し、本論文の総括としている。

論文審査の結果の要旨

Streptomyces 属放線菌は土壌中をはじめ自然界に広く分布し、抗生物質をはじめとする多くの有用な二次代謝物質を生産し、醗酵工業において重要な位置を占める微生物群である。また、原核生物でありながら、その生活史において気菌糸を形成し、胞子を着生する分化を行う。したがって、生物の分化機構を解明するという基礎的研究対象としても重要な微生物である。

多くの *Streptomyces* 属には自己誘導因子が存在し、極微量で二次代謝物質の生産および分化を誘導している。本論文は *Streptomyces virginiae* の抗生物質 virginiamycin 生産誘導因子、virginiae butanolide (VB) の作用機構を解明する目的で微生物ホルモン様低分子 VB 結合タンパク質を分離精製し、その構造を解明したもので、その成果を要約すると、次の通りである。

- (1) VB 結合タンパク質の有力候補であった タンパク質を精製し、その遺伝子 (*vbrA*) をクローニングし、その一次構造を明らかにした。また、大腸菌の致死遺伝子産物であり、その転写機構に極めて重要な働きをする NusG タンパク質の C-末端側半分が高度に類似していること、及びその前後の遺伝子配置も類似していることを明らかにした。
- (2) *S. virginiae* における 遺伝子発現の経時変化を明らかにし、その大腸菌における大量発現を行い、機能解析の結果 VbrA タンパク質が VB 結合活性を持たないことを証明した。
- (3) VB 結合タンパク質精製方法を改良し、分子量約 26000 のタンパク質、p26k が VB 結合タンパク質であることを明らかにした。
- (4) p26k タンパク質遺伝子をクローニングし、その一次構造を明らかにした。さらに、クローン化した遺伝子を放線菌 *S. lividans* および大腸菌中で発現させ、その VB 結合活性を確認した。また、これらの異種放線菌及び大腸菌で発現した p26k VB 結合タンパク質と VB の親和性が *S. virginiae* 本来のその約 10 分 1 であること、およびそのアミノ酸配列決定の結果から *S. virginiae* 細胞中にはなんらかの活性化機構が存在することを示唆している。

以上のように、本論文は放線菌自己調節因子の作用機構解明の端緒となる多くの有益な知見を得ており、醗酵工学、微生物学の発展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。