The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A Butyrolactone Autoregulator Binding Protein in Streptomyces sp. FRI-5 : the IM-2 Binding Protein
Author(s)	Marasri, Ruengjitchatchawalya
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39154
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

【9】

氏　　名	Marasri Ruengjitchatchawalya（マラシー　ルーンジチャチャワーン）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学位記番号	第　11855　号
学位授与年月日	平成7年3月23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	A Butyrolactone Autoregulator Binding Protein in *Streptomyces* sp. FRI-5 : the IM-2 Binding Protein （*Streptomyces* sp. FRI－5株由来ブチロラクトンオートレギュレーター結合タンパク質：IM－2結合タンパク質）
論文審査委員	（主査） 教授　山田　靖宙 教授　大嶋　泰治　　教授　菅　　健一　　教授　吉田　敏臣 教授　今中　忠行　　教授　卜部　　格　　教授　塩谷　捨明

論文内容の要旨

本論文は，抗生物質サイクロセリン生産菌株である*Streptomyces* sp. ＦＲＩ－５株において青色色素生産及びヌクレオシド型抗生物質を誘導するブチロラクトン型オートレギュレーターＩＭ－２結合タンパク質の確認及びその精製に関するものであり，緒論，結論を含んだ５章からなっている。

第１章では，*Streptomyces*属に分布するブチロラクロン型オートレギュレーターについて，これまでの知見を解説し，このグループに属するオートレギュレーターＩＭ－２の信号伝達機構を解明するために，そのレセプターと見なされるＩＭ－２結合タンパク質解明の意義について述べている。

第２章では，*Streptomyces virginiae*のオートレギュレーター結合タンパク質と当初考えられ，その後結合タンパク質ではないが，なんらかの結合活性安定化の働きをしていると考えられるVbrAタンパク質の遺伝子を*Streptomyces* sp. ＦＲＩ－５中に探索し，クローニングしている。*VbrA*類縁遺伝子（*nusG*遺伝子）の塩基配列，周辺遺伝子の解析の結果，SecE, NusG（VbrA），リボゾームサブユニットL11，L１が存在し，*S. virginiae*と類似していることから，ＦＲＩ－５株のNusGもＩＭ－２結合タンパク質となんらかの関わりをもつ可能性を示唆している。

第３章では，ＦＲＩ－５株中にIM－２結合タンパク質が存在することを証明するために，^{3}Ｈラベル ＩＭ－２アナログを合成後，binding assay法を確率し，本菌の無細胞抽出液中に明瞭な結合タンパク質の存在を明らかにしている。本結合タンパク質のＩＭ－２に対するKdは１．３nM，*S. virginiae*のオートレギュレーターＶＢに対するKdは，35nMと決定している。また，他のオートレギュレーターを用いた拮抗阻害実験より，本結合タンパク質は，極めてＩＭ－２特異的であることを見いだしている。次に，超遠心による活性の分画実験より，ＩＭ－２結合タンパク質は可溶性タンパク質であることを示している。

第４章では，ＦＲＩ－５株菌体より，ＩＭ－２結合タンパク質の精製法を確立し，これをほぼ単一にまで精製している。本結合タンパク質は非変性条件下のゲル濾過クロマトグラフィーでは，分子量60ｋを示し，SDS－PAGEでは，分子量27ｋを示すことから，２量体として存在することを指摘している。また，精製標品を用いて，Ｎ末端の部分アミノ酸配列を決定しており，将来の遺伝子クローニングに備えオリゴヌクレオチドプローブを合成している。

第５章では，得られた成果の要約を記載している。

論文審査の結果の要旨

*Streptomyces*属放線菌は抗生物質その他の有用二次代謝物質を数多く生産する醗酵工業上重要な微生物である。また，原核生物でありながら基底菌糸，気菌糸及び胞子形成という形態分化を行う基礎生物学的見地から見ても興味ある生物である。本論文はサイクロセリン生産菌*Streptomyces* sp. ＦＲＩ－５において青色色素生産およびヌクレオシド型抗生物質を誘導するオートレギュレーターＩＭ－２の作用機作を解明すべく，その最初のレセプターと考えられるＩＭ－２結合タンパク質を精製した研究結果をまとめたものである。得られた主な研究成果を要約すると次の通りである。

(1) *S. virginiae*のオートレギュレーターVB結合タンパク質と当初考えられ，結合活性安定化の作用をもつ VbrA（放線菌 NusG）の遺伝子がＦＲＩ－５株においても存在することを確認し，その遺伝子*nusG*のクローニング，塩基配列決定，周辺遺伝子の解析の結果，本菌においても，NusG がＩＭ－２結合タンパク質と相互作用を持つ可能性を示唆した。

(2) ＩＭ－２結合タンパク質探索用リガンド，^{3}Ｈ－ラベルＩＭ－２アナログをデザイン，合成し，その有効性を示した。

(3) 上記放射性リガンドを用いて，ＦＲＩ－５株にＩＭ－２特異的結合タンパク質が存在する事を証明し，その binding assay 法を確立した。また，その Kd を１．３nMと決定し，可溶性タンパク質であることを明らかにした。

(4) ＦＲＩ－５株よりのＩＭ－２結合タンパク質の精製法を確立し，精製後分子量を27ｋと決定し，その精製標品を用いて，Ｎ－末端部分アミノ酸配列を決定した。また，非変性条件下では60ｋの分子量を示すことから，このタンパク質が２量体であることを見いだした。

以上のように本論文は放線菌の生理的分化を誘導するオートレギュレーターＩＭ－２の作用機構解明の端緒をひらくものであり，放線菌の基礎生理学及び二次代謝物質生産に役立つ多くの知見を得ている。これらの成果は微生物学，応用生物工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。