



Title	A study on a 6-dehydrovirginiae butanolide A reductase in the biosynthetic pathway of $\gamma$ -butyrolactone autoregulator of the genus <i>Streptomyces</i>
Author(s)	志倉, 教保
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43389">https://hdl.handle.net/11094/43389</a>
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	志倉教保
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 16991 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	A study on a 6-dehydrovirginiae butanolide A reductase in the biosynthetic pathway of $\gamma$ -butyrolactone autoregulator of the genus <i>Streptomyces</i> ( <i>Streptomyces</i> 属放線菌における $\gamma$ -butyrolactone 型 autoregulator 生合成酵素6-dehydrovirginiae butanolide A reductase に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 卜部 格
	(副査) 教授 小林 昭雄    教授 関 達治    教授 室岡 義勝 教授 原島 俊    教授 塩谷 捨明    教授 福井 希一 教授 吉田 敏臣    教授 金谷 茂則    教授 二井 将光

#### 論文内容の要旨

$\gamma$ -Butyrolactone autoregulator は、*Streptomyces* 属放線菌における自身の二次代謝産物生産及び形態分化を数 nM の極低濃度で誘導する「放線菌ホルモン」と称すべき化合物であり、その特徴的な化学構造から、A-factor 型、Virginiae Butanolide (VB) 型、IM-2型の3群に分類される。本論文は、 $\gamma$ -butyrolactone autoregulator 生合成経路最終段階の還元反応を触媒する6-dehydro VB-A reductase に関するものであり、緒言(第1章)、本論3章、総括(第5章)から構成される。

第1章では、本研究の背景と目的、及びその意義について記述した。

第2章では、VB-A 高生産株 *S. antibioticus* NF-18由来の6-dehydro VB-A reductase の同定とその酵素学的諸性質について述べた。最小検出限界 3 pmol の定量的酵素アッセイ系の確立と酵素を安定化する buffer 組成の決定を経て、本酵素は NADPH 依存的な、可溶性の還元酵素であり、その活性は極めて微量、微弱で、安定化に 10  $\mu$ M 以上の NADPH を必要とすることが判明した。

第3章では、VB-A に加え、IM-2型活性物質をも極微量生産する *S. antibioticus* NF-18における IM-2型 autoregulator 生合成酵素の同定について述べた。本菌株由来の粗酵素液は、6-dehydro VB-A から NADPH 依存的に IM-2型化合物を生成した。更に、粗酵素液の陰イオン交換クロマトグラフィーによる分画から、本菌株は、少なくとも2種類の6-dehydro VB-A reductase を有することがわかった。

第4章では、virginiamycin 生産菌 *S. virginiae* において6-dehydro VB-A reductase 遺伝子 (*barS1*) を初めて同定し、組換え型タンパク質の精製後、その酵素学的諸性質について述べた。本遺伝子は、virginiamycin 生産菌 *S. virginiae* における VB レセプター遺伝子 (*barA*) の約 3 kb 上流に位置し、そのアミノ酸配列は short chain alcohol dehydrogenase (SCAD) superfamily に属する  $\beta$ -ketoacyl ACP/CoA reductase 類と 35% 程度の相同性を示した。*barS1* がコードする酵素は、分子量 54,000 の二量体で、(3R)-体の A-factor 型化合物を基質として要求する NADPH 依存的な還元酵素であり、その立体特異性は極めて高く、天然型の絶対構造を有する (2R, 3R, 6S)-体の VB 型化合物のみを生成した。

最終章において本論文の内容を要約し、結論を述べた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、*Streptomyces* 属放線菌における  $\gamma$ -butyrolactone 型 autoregulator 生合成酵素の一つである 6-dehydrovirginiae butanolide A reductase について、高感度酵素アッセイ系を開発することにより、初めて酵素学的解析を行い、諸性質を決定し、その遺伝子の取得及び遺伝子産物の性格付けに成功している。

以上のように、本論文は、極めて微量にしか存在しない 6-dehydrovirginiae butanolide A reductase に関し、特徴的な性質を明らかにした。ここにおいて得られた知見は、放線菌ホルモン生合成酵素系及びその遺伝子群の解明に大きく貢献するものであり、よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。