

氏 名	寺 岡 宏 てら おか ひろし
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	論 理 博 第 358 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Studies on the Effect of Erythromycin on Protein Synthesis in an <i>Escherichia coli</i> Cell-Free System: Action of Erythromycin to Ribosomes (大腸菌無細胞系における蛋白質合成におよぼすエリスロマイシンの作用の研究: 特にリボソームに対する作用について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 高 浪 満 教 授 由 良 隆 教 授 波 多 野 博 行

論 文 内 容 の 要 旨

抗生物質エリスロマイシンの抗菌作用に関し、エリスロマイシンが細菌細胞のリボソームの 50S サブユニットに特異的に結合してリボソームの活性を変化させることにより蛋白質合成を阻害することを明らかにしたのが主論文の内容である。

大腸菌から調製した蛋白合成系に、poly A を伝令 RNA として加え 37°C で加温するとポリリジンが合成されるが、この反応系にエリスロマイシンを加えると、ポリリジンの合成は完全に阻害され、ジ、トリ、テトラリジンなどが蓄積することを発見した(参考論文 1, 2, 3)。そこで C¹⁴ で標識したエリスロマイシンを合成、蛋白質合成に関与する諸因子との相互作用をしらべたところ、リボソームの 50S サブユニットにのみ特異的に結合することがわかった。リボソーム 1 ケ当りエリスロマイシン一分子が結合し、この結合量は蛋白質合成に関与する他の諸因子によって影響をうけない。細菌細胞のリボソームのみがエリスロマイシンを結合し、動物細胞のリボソームは結合しない。リボソームのエリスロマイシン結合能はリボソームを K⁺ または NH₄⁺ を含まない溶液で保存すると失われるが、K⁺ または NH₄⁺ と 37°C で加温することによって可逆的に回復させることができる(主論文 1, 2)。

リボソームの 30S サブユニットは伝令 RNA を、50S サブユニットは peptidyl tRNA と aminoacyl tRNA を結合し、50S サブユニット上でペプチド結合を形成するが、このペプチド結合形成の類似反応に、N-acetyl-phe-tRNA と puromycin の間で N-acetyl-phe-puromycin が生成する反応がある。そこでこの反応に対するエリスロマイシンの作用を調べたところ、N-acetyl-phe-puromycin の生成は阻害しないことがわかった。他種の抗生物質であるクロラムフェニコールは 50S サブユニットに結合して、N-acetyl-phe-puromycin の生成を阻害することが知られているが、このようなクロラムフェニコールの阻害作用は、エリスロマイシンを加えることによってむしろ回復する。この現象は、エリスロマイシンはクロラムフェニコールと異なった部位に結合するが、エリスロマイシンが結合することによって、クロラムフェニコールがリボソームから遊離するためと推定された(主論文 3)。

エリスロマイシンの作用機構を更に解明するため、大腸菌からエリスロマイシン耐性株を分離して、そのリボソームのエリスロマイシン結合能を測定したところ、耐性株のリボソームは、エリスロマイシンを結合せず、また peptidyl transferase 活性に変化がみられた。50S サブユニットは35ヶの蛋白質から構成されているが、野性株と耐性株から 50S サブユニットを分離し蛋白質の比較分析をおこなったところ、そのなかの一種類のみが異なっていることを発見した。したがって、この蛋白質がリボソームのエリスロマイシンの結合能に関与していると推定された（参考論文 7, 8, 9, 10）。

参考論文12, 13は、エリスロマイシン以外の抗生物質の作用について比較研究をおこなったものである。

論文審査の結果の要旨

一般に抗生物質の作用は極めて高い特異性をもっているので、蛋白質合成を特異的に阻害する抗生物質の作用機構を研究することは、複雑な蛋白質合成機構を解明する有力な手段になると考えられる。申請者は、このような観点から蛋白質合成に対する各種抗生物質の作用について比較研究し、エリスロマイシンが特徴的な阻害作用をもっていることを発見したものである。研究の端緒は poly A→ポリリジン合成系に、エリスロマイシンを加えると、ジ、トリ、テトラリジンのような短いリジンペプチドのみが蓄積することを発見したことによる。そこで C^{14} ・エリスロマイシンを用いて合成に関与する諸因子との相互作用について研究し、エリスロマイシンがリボソームの 50S サブユニットにのみ結合することをつきとめた。リボソームの 50S サブユニットには2つの tRNA 結合部位、A site と P site があり、ペプチド鎖の合成は P, A site に結合した aminoacyl tRNA 間でペプチド結合を形成、P site の tRNA を遊離して A site の peptidyl tRNA が P site に転移するという機構で進行すると推定されている。エリスロマイシン同様に 50S サブユニットに結合する抗生物質にクロラムフェニコールがあるが、クロラムフェニコールは aminoacyl tRNA 間のペプチド結合の形成を阻害する。これに対してエリスロマイシンは、リボソームと aminoacyl tRNA の結合能、aminoacyl tRNA 間のペプチド結合の形成には影響を与えない。したがって、エリスロマイシンはリボソームに結合することにより、ペプチド形成以後の過程、peptidyl tRNA の A site から P site への転移に異状をおこすと推定される。このことは poly A→ポリリジン合成系で短いリジンペプチドのみが、合成されることも一致する。申請者は更にエリスロマイシン耐性株を分離して、そのリボソームはエリスロマイシン結合能を欠除すること、50S サブユニットを形成する35ヶの蛋白質の1ヶが変化していることを確かめた。また、エリスロマイシンの阻害作用のない動物細胞のリボソームはエリスロマイシンを結合しないことを明らかにした。

以上の研究は蛋白質合成機構の解明に寄与するところ大である。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。